

# Vrijeme preživljavanja i vrijeme bez bolesti kod različitog stupnja mastocitoma u pasa

---

**Krolo, Filip**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2017**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:443119>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-13**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**VETERINARSKI FAKULTET**

**Filip Krolo**

**Vrijeme preživljavanja i vrijeme bez bolesti kod različitog stupnja mastocitoma u pasa**

**Diplomski rad**

**Zagreb, 2017.**

Diplomski rad izrađen je na Zavodu za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Predstojnik Zavoda za veterinarsku patologiju: Doc. dr. sc. Marko Hohšteter

Mentori: 1. Prof. dr. sc. Branka Artuković

2. Doc. dr. sc. Marko Hohšteter

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Prof. dr. sc. Andrea Gudan Kurilj

2. Doc. dr. sc. Marko Hohšteter

3. Prof. dr. sc. Branka Artuković

4. Ivan-Conrado Šoštarić- Zuckermann- zamjena

## **Zahvala**

Zahvaljujem mentorima prof. dr. sc. Branki Artuković i doc. dr. sc. Marku Hohšteteru na vodstvu, pomoći, velikom strpljenju i uloženom trudu pri izradi ovog diplomskog rada i posebno prof. dr. sc. Branki Artuković na usmjeravanju i pomaganju tokom cijelog studija.

Također zahvaljujem svim djelatnicima Zavoda za veterinarsku patologiju za pomoć prilikom izrade ovog rada.

Veliko hvala mojoj obitelji, prijateljima i kolegama na pomoći i podršci tijekom razdoblja studiranja.

Najveća zahvala ide mojim roditeljima bez kojih ovo sve ne bi bilo moguće.

## POPIS PRILOGA

### SLIKE

Slika 1: Mastocitom prvog stupnja, pas, HE, x 20.....	21
Slika 2: Mastocitom drugog stupnja, pas, HE, x 20.....	21
Slika 3: Mastocitom trećeg stupnja, pas, HE, x 40.....	22
Slika 4: Mastocitom u psa, Toluidin blue, x 40.....	22

### TABLICE

Tablica 1: Pojavnost mastocitoma u odnosu na ukupan broj tumora i ukupan broj kožnih tumora.....	18
Tablica 2: Zastupljenost pasmina u ukupno 123 psa s mastocitomom.....	19
Tablica 3: Zastupljenost pojedinih pasmina u anketiranoj skupini od 77 pasa s mastocitomom.....	24

### GRAFIKONI

Grafikon 1: Zastupljenost spolova u 133 uzorka mastocitoma (123 životinje).....	20
Grafikon 2: Raspodjela stupnjeva mastocitoma po Patnaiku u 133 istraživana slučaja.....	23
Grafikon 3: Zastupljenost spolova u anketiranoj skupini od 77 pasa s mastocitomom.....	25
Grafikon 4: Raspodjela stupnjeva mastocitoma po Patnaiku u anketiranoj skupini od 77 pasa s mastocitomom.....	25
Grafikon 5: Distribucija vremena preživljavanja pojedinih pasa ovisno o stupnju mastocitoma (ukupan broj pasa 77).....	26
Grafikon 6: Pojedinačno vrijeme preživljavanje 26 pasa uginulih zbog mastocitoma.....	27
Grafikon 7: Pojedinačno preživljavanje 14 pasa s mastocitomom prvog stupnja .....	28
Grafikon 8: Pojedinačno preživljavanje 45 pasa s mastocitomom drugog stupnja .....	29
Grafikon 9: Pojedinačno preživljavanje 18 pasa s mastocitomom trećeg stupnja.....	30
Grafikon 10: Postotak preživjelih pasa i vrijeme preživljavanja ovisno o stupnju mastocitoma u anketiranoj skupini od 77 pasa s mastocitomom.....	31
Grafikon 11: Ukupan broj pasa s određenim stupnjem tumora i broj životinja s ponovnim javljanjem tvorbi u tom stupnju .....	32
Grafikon 12: Raspodjela 39 pasa s recidivom po stupnjevima ovisno o lokaciji recidiva (%) .....	33
Grafikon 13: Usporedba prosječnog vremena preživljavanja 39 pasa s ponovnim javljanjem tumoroznih tvorbi ovisno o lokaciji recidiva.....	34

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. PREGLED LITERATURE .....	3
3. CILJEVI .....	15
4. MATERIJALI I METODE .....	16
4.1. Uzorkovanje tumora.....	16
4.2. Histopatološka pretraga.....	16
4.3. Anketni listić za praćenje biološkog ponašanja tumora.....	16
5. REZULTATI .....	18
5.1. Rezultati analize tumora.....	18
5.2. Rezultati histopatološke analize.....	21
5.3. Rezultati analize ankete.....	23
6. RASPRAVA .....	35
6.1. Rezultati analize tumora vezani za pasminsku, spolnu i dobnu distribuciju.....	35
6.2. Rezultati histopatološke analize .....	36
6.3. Rezultati biološkog ponašanja dobiveni anketiranjem vlasnika .....	36
7. ZAKLJUČCI .....	39
8. REFERENCE .....	41
9. SAŽETAK .....	47
10. SUMMARY .....	48
11. ŽIVOTOPIS.....	49

## 1. UVOD

Tumori su jedan od najčešćih uzroka smrti u pasa, pogotovo starijih. Jedan od njih je i mastocitom. Najčešće se pojavljuje na koži, ali se može pojaviti i na drugim organima kao primarnim lokacijama ili kao metastaza iz kože. Kako se najčešće pojavljuju na koži i vlasnici lakše mogu primjetiti promjenu i prije posjetiti veterinara. Treba napomenuti da pri pojavi bilo kakve tvorbe na koži u pasa mastocitom treba biti jedna od diferencijalnih dijagnoza. Biološko ponašanje tumora, vrijeme bez bolesti i vrijeme preživljavanja ovisi o histološkom stupnju tumora (postoji trostupanjska klasifikacija po Patnaiku i sur., 1984. i dvostupanjska po Kiupelu i sur., 2011.).

Unatoč njegovoj relativno velikoj pojavnosti u pasa u Hrvatskoj do sada nema istraživanja, a niti razvijenog protokola o praćenju pacijenata nakon dijagnoze i uklanjanja tumora kao ni praćenja pojavnosti recidiva ili metastaza te vremena preživljavanja životinje.

Kako se gotovo svi uzorci tkiva s tumorom iz područja Republike Hrvatske na patohistološku dijagnostiku dostavljaju na Zavod za veterinarsku patologiju namjera nam je da u ovom radu provjerimo vrijeme bez bolesti nakon uklanjanja, odnosno vrijeme pojave recidiva tumora i vrijeme preživljavanja ovisno o histološkom stupnju tumora. Podatci će se odnositi na tumore iz arhiva Zavoda u petogodišnjem razdoblju pri čemu je dijagnostika i stupnjevanje tumora rađeno po trostupanjskoj klasifikaciji (PATNAIK i sur., 1984.), a do podataka o duljini vremena do ponovne pojave bolesti i vremenu preživljavanja kod određenog stupnja tumora doći će se anketiranjem vlasnika životinje. Za očekivati je da će dobiveni rezultati pomoći kliničarima pri dijagnostici i terapiji tumora i ukazati na potrebu stvaranja protokola praćenja životinje s mastocitomom (dijagnoza, terapija, recidiv ili metastaza, vrijeme preživljavanja). Isto tako očekuje se da rezultati ukažu da li je

trostupanjska histološka klasifikacija pouzdana ili je uvođenje dvostupanjske klasifikacije imperativ.



## 2. PREGLED LITERATURE

Mastocitomi su neoplastične proliferacije mastocita. Psi imaju osobitu predispoziciju za mastocitome (WELLE i sur., 2008.) i podatci o njihovoj pojavnosti su različiti. Čine 7-21 % svih tumora kože u pasa (PATNAIK i sur., 1984.; WELLE i sur., 2008.; BLACKWOOD i sur., 2012.; MAULDIN i PETERS KENNEDY., 2016.), a u Hrvatskoj 13.47% (ARTUKOVIĆ i sur., 2014.). Mastocitomi se obično javljaju u starijih pasa, u prosjeku s 9 godina, ali se mogu pojaviti i u pasa mlađih od godinu dana. Veći rizik i sklonost razvoju mastocitoma imaju određene pasmine pasa kao što su bokseri, retriveri, mopsi, boston terijeri i pit-bulovi dok nije utvrđena spolna predispozicija (BLACKWOOD i sur., 2012.).

Mastocitomi se mogu pojaviti kao solitarne ili rasijane multiple tvorbe po cijelom tijelu kada imaju znatno lošiju prognozu (KIUPEL i sur., 2005). Najčešće se pojavljuju u dermisu i subkutisu. Dobro diferencirani mastocitomi najčešće izgledaju kao bezdlačne solitarne tvorbe koje sporo rastu dok slabije diferencirani brzo rastu te često ulceriraju, a u životinje može uzrokovati i svrbež u tom području. Često se uz veću tvorbu vide i prateće manje tvorbe, tzv. satelitske lezije (BLACKWOOD i sur., 2012.). Svrbež, edem, ulceracije i krvarenja su posljedica degranulacije mastocita (VAN GELDEREN i sur., 2011.), pri čemu se otpuštaju granule koje sadrže histamin i heparin. Budući da poticaji za degranulaciju mogu biti različiti od fizikalnih, koji uključuju i traumu, do kemijskih i imunoloških, kliničari trebaju biti oprezni prilikom pregleda životinje s mastocitomom. Gruba manipulacija može dovesti do pojave eritema i otečenja, tzv. Darierovog znaka. Klinički znaci koji ukazuju na agresivniji oblik mastocitoma uključuju brzi i infiltrativni rast, lokalnu upalu, stvaranje satelitskih tumora (BLACKWOOD i sur., 2012.). Također neka istraživanja ukazuju da i lokalizacija tumora može utjecati na prognozu odnosno biološko ponašanje tumora. Tako se pojavnost tumora u ustima, ingvinalnom području i mukokutanim spojevima smatraju

prognostički lošijim lokacijama tumora koje imaju veći potencijal metastaziranja (GOVIER, 2003.). Međutim, u jednom istraživanju koje je uključivalo 124 slučaja mastocitoma u ingvinalnom i perinealnom području nije utvrđena razlika u duljini vremena bez pojave bolesti i vremena preživljavanja u odnosu na pse s tumorima na drugim lokacijama već je ono ovisilo o histološkom stupnju i kliničkom stadiju bolesti (SFILIGOI i sur., 2005.). CAHALANE i sur. (2004) su pratili 68 pasa s mastocitomom u ingvinalnoj ili perinealnoj regiji i također zaključili da nema bitnije razlike u preživljavanju pasa s tumorom na tim lokacijama. Razlog lošije prognoze tumora na tim lokacijama bi mogao biti zbog otežanog pristupa za obavljanje operacije. Mastocitomi koji se razvijaju na visceralnim organima i u koštanoj srži imaju lošu prognozu (BLACKWOOD i sur., 2012.).

Biološko ponašanje mastocitoma je jako varijabilno (O'KEEFE, 1990.; PREZIOSI i sur., 2004.; PASSANTINO i sur., 2008.), te može biti od relativno benignog do izrazito agresivnog koji uzrokuje metastaziranje i smrti (LONDON i SEGUIN, 2003.). Jasno se treba naglasiti da se svi mastocitomi moraju smatrati potencijalno malignima (GOLDSCHMIDT i SHOFER, 1992.; GROSS i sur., 2005.). Biološko ponašanje uvelike ovisi histološkom stupnju tumora. Postoje dvije metode klasifikacije tumora, a to su trostupanjska metoda (PATNAIK i sur., 1984.) i dvostupanjska (KIUPEL i sur., 2011.). Po Patnaikovoj trostupanjskoj metodi klasifikacije u prvi prvi stupanj tumora svrstani su oni koji su sastavljeni od dobro diferenciranih mastocita najčešće posloženih u redove ili u malim grupama koje razdvajaju kolagena vlakna dermisa. Stanice su okruglog oblika s obilnom citoplazmom koja sadrži srednje velike granule. Jezgre stanica su okrugle s gustim kromatinom i nema vidljivih mitoz. Tumori su najčešće u dermisu i intefolikularnim prostorima. Kod stupnja II stanice su pleomorfne i u citoplazmi su vidljive veće granule. Stanice su poredane u grupe odijeljene finom fibrovaskularnom stromom. Jezgra im je okrugla do ovalna sa raspršenim kromatinom i vidljivim jezgricama. Prisutan je manji broj mitoz (0 – 2 po vidnom polju). Neoplastične

stanice infiltriraju duboki dermis i subkutis. Neki tumori sežu sve do skeletnog mišićja ili drugog okolnog tkiva. U najmalignijem, trećem stupnju, prisutan je pleomorfizam i visoka staničnost i značajnija anizocitoza i anizokarioza, prisutnost binuklearnih i multinuklearnih divovskih stanica i stanica s više vidljivih jezgara. Nazočno je više mitoze, (oko 3–6 po vidnom polju pod velikim povećanjem). Tumorske stanice gotovo u potpunosti zamjenjuju subkutis i duboki dermis. Često su prisutni edem, krvarenja i nekroze. U Patnaikovom istraživanju u kojem su bila uključena 83 psa udio pojedinih stupnjeva je bio 36% za prvi stupanj, 43% za drugi i 20% za treći stupanj mastocitoma. U prvom stupnju 93% životinja je preživjelo 1500 dana. Od životinja s drugim stupnjem tumora 47% je preživjelo 1500 dana dok je u trećem stupnju tumora samo 6% preživjelo 1500 dana (PATNAIK i sur., 1984.). Patnaikov sustav predviđa dobru prognozu za stupanj I, a lošu za stupanj III. Najveća slabost ovog sustava je povezana sa II stupnjem zbog njegove velike raznolikosti (OZAKI i sur., 2007.; KANDEFER–GOLA i sur., 2015.).

Već iz Patnaikovog rada vidljivo je da je otprilike polovica pasa s drugim stupnjem mastocitoma preživjela preko 1500 dana, a polovica ispod, što ne daje dobru prognostičku vrijednost (KIUPEL i sur., 2011.). Naime, patolozi se često ne slažu oko stupnjevanja zbog subjektivnosti (NORTHRUP i sur., 2005.; NEWMAN i sur., 2007.; KIUPEL i sur., 2011.). To rezultira varijacijama i različitim biološkim ponašanjem tumora drugog stupnja (SCASE i sur., 2006.), te tako i nepouzdanom prognozom (WEBSTER i sur., 2004.). Drugi stupanj je vjerojatno zato i najzastupljeniji. Utvrđena su izrazita odstupanja između patologa pri postavljanju dijagnoze i utvrđivanja stupnja tumora. Tako je 10 patologa dobilo 60 histoloških preparata mastocitoma, za svaki stupanj 20 preparata. Od 60 uzorka, svih 10 patologa se slagalo oko stupnja na samo 4 preparata, 3 visokog trećeg stupnja i 1 niskog prvog stupnja (NORTHRUP i sur., 2005.). U drugom istraživanju 28 patologa je dobilo 95 uzorka mastocitoma. Njih 74.6% se slagalo oko dijagnoze trećeg stupnja, dok je kod drugog stupnja

suglasnost bila 63%, a prvog 63.1%. Zaključeno je da postoji tendencija postavljanja dijagnoze mastocitoma drugog stupnja za one tumore koji su na granici između prvog i drugog stupnja. Ta činjenica zajedno sa subjektivnošću patologa rezultira povećanim brojem dijagnoze mastocitoma drugog stupnja te samim time i nepouzdanom prognozom (KIUPEL i sur., 2011.). Kiupel također kritizira Patnaikov kriterij 3-6 mitozu po vidnom polju za treći stupanj, smatrajući da je to preblag kriterij zbog kojeg isključujemo neke tumore za visoki stupanj koji će se ponašati agresivno. Još jedan razlog za reorganizaciju stupnjevanja mastocitoma su potkožni tumori. Patnaik je potkožnu lokaciju tumora koristio kao jedan od kriterija malignosti, te takve tumore svrstavao u drugi stupanj (PATNAIK i sur., 1984.). Do danas je napravljeno više istraživanja koja tvrde da potkožni mastocitomi imaju dobru prognozu (NEWMAN i sur., 2007.; THOMPSON i sur., 2011.).

Zbog toga je Kiupel u svom radu predložio novi, dvostupanjski sustav u kojem postoje niski stupanj i visoki stupanj malignosti mastocitoma. Visoki stupanj malignosti se dijagnosticira na temelju prisutnosti bar jednog od slijedećih kriterija: najmanje 7 mitozu u 10 vidnih polja pod velikim povećanjem mikroskopa (HPF); najmanje 3 višejezgrene (multinuklearne) stanice u 10 vidnih polja; najmanje 3 bizarne jezgre u 10 vidnih polja i kariomegalija. Svi ostali mastocitomi su smatrani niskim stupnjem malignosti. Biraju se vidna polja s najvišom mitotskom aktivnošću ili s najvećim stupnjem anizokarioze. U tom radu, primjenom dvostupanjskog sistema, prosječno preživljavanje životinja s mastocitomom visokog stupnja malignosti je ispod 4 mjeseca, a kod niskog stupnja malignosti više od dvije godine. Ova dvostupanjska klasifikacija tumora pokazuje puno veće suglasje među patolozima pri određivanju stupnja malignosti i to čak u 99,3% slučajeva. Ovom metodom uklonjene su veće varijabilnosti između patologa koje su bile pri postavljanju dijagnoze tumora drugog stupnja pri trostupanjskoj klasifikaciji. (KIUPEL i sur., 2011.). Učinkovitost dvostupanjskog sustava su potvrdila i neka druga istraživanja. Tako su SABATTINI i sur.

(2015.) usporedili Patnaikov i Kiupelov sustav stupnjevanja mastocitoma na 137 uzorka mastocitoma. Prema Patnaikovom sustavu 13.1% mastocitoma su bili prvog stupnja, 60.6% drugog, a 26.3% trećeg stupnja. Preživljavanje od 12 mjeseci je bilo 100% kod prvog stupnja, 87% u drugom stupnju i 16 % u trećem stupnju. Prosječno preživljavanje u trećem stupnju je bilo 108 dana. Patnaikov sustav pruža pouzdanu prognozu za prvi i treći stupanj, dok se drugi stupanj ne razlikuje puno od prvog. Prema Kiupelovom sustavu 65% uzorka su bili mastocitomi niskog stupnja malignosti i 35% visokog stupnja malignosti. Preživljavanje od 12 mjeseci je bilo u 95% za mastocitome niskog stupnja malignosti te 24% u visokog stupnja malignosti. Prosjek preživljavanja mastocitoma visokog stupnja malignosti je bio 150 dana. Kada se usporede ova dva sustava, svi Patnaikovi mastocitomi prvog stupnja su bili mastocitomi niskog stupnja malignosti po Kiupelu, kao i što su svi Patnaikovi mastocitomi trećeg stupnja bili mastocitomi visokog stupnja malignosti po Kiupelu. U Patnaikovom drugom stupnju, 85.6% mastocitoma su pripadali Kiupelovim mastocitomima niskog stupnja malignosti i 14.4% su pripadali mastocitomima visokog stupnja malignosti. Preživljavanje od 12 mjeseci je bilo 94% za mastocitome koji su po Patnaiku bili razvrstani u drugi stupanj, a po Kiupelu u niski stupanj malignosti, i u 46% životinja koji su iz drugog Patnaikovog stupnja po Kiupelu razvrstani u visoki stupanj malignosti. Prosječno vrijeme preživljavanja tih životinja drugog stupnja koji su razvrstani u visoki stupanj malignosti je bio 698 dana. STEFANELLO i sur., (2015.) su također uspoređivali ova dva sustava. Analizirali su 386 patohistološka uzorka mastocitoma. Po Patnaikovu, 13.5% pasa je imalo mastocitom prvog stupnja, 75.4% mastocitom drugog stupnja i 11.1% mastocitom trećeg stupnja. Po Kiupelu 76.4% su bili mastocitomi niskog stupnja malignosti i 23.6% mastocitomi visokog stupnja malignosti. Svi Patnaikovi mastocitomi prvog stupnja su bili mastocitomi niskog stupnja malignosti po Kiupelu i svi Patnaikovi mastocitomi trećeg stupnja su bili mastocitomi visokog stupnja malignosti po Kiupelu. Od Patnaikovih mastocitoma drugog stupnja 83.5% su bili

mastocitomi niskog stupnja malignosti po Kiupelu i 16.5% mastocitomi visokog stupnja malignosti po Kiupelu. U ovom radu je istražena i mogućnost predviđanja metastaza ovisno o stupnju tumora razvrstanog po ove dvije metode. Po Patnaikovu 5.8% pasa s prvim stupnjem mastocitoma, 16.5% s drugim i 48.8% s trećim stupnjem su razvili metastaze. Postojala je znatna razlika u pojavnosti metastaza između prvog i trećeg, te drugog i trećeg stupnja, ali ne između prvog i drugog stupnja. Po Kiupelovom sistemu, 14.9% mastocitoma niskog stupnja malignosti i 30.8% mastocitoma visokog stupnja malignosti su razvili metastaze. Treba naglasiti da je 16.9% mastocitoma s Patnaikovim drugim stupnjem koji su bili klasificirani kao Kiupelov niski stupanj malignosti metastaziralo, a kod onih koji su klasificirani kao visoki stupanj metastaze su bile u 14.6% slučajeva. Prevalencija metastaza se ne razlikuje značajno između pasa s Patnaikovim drugim stupnjem koji su razvrstani u Kiupelove mastocitome visokog (14.6%) i niskog stupnja malignosti (16.9%). Slično, nema značajne razlike u metastazama između mastocitoma niskog stupnja malignosti koji su Patnaikovi mastocitomi prvog stupnja (5.8%) i mastocitoma niskog stupnja malignosti koji su po Patnaiku mastocitomi drugog stupnja (16.9%). Mastocitomi trećeg stupnja po Patnaiku pokazuju znatno veći metastaski potencijal od mastocitoma prvog i drugog stupnja, a po Kiupelu mastocitomi visokog stupnja također pokazuju veći metastatski potencijal od mastocitoma niskog stupnja malignosti. Dobar dio pasa s mastocitomima prvog (5.8%) i drugog (16.9%) stupnja po Patnaiku te niskog stupnja malignosti (14.9%) po Kiupelu su isto razvili metastaze. To je dovelo do zaključka da histološko stupnjevanje, neovisno koji sustav se koristi, nije dovoljno za postavljanje pouzdane prognoze. Unatoč tome brojni laboratoriji danas primjenjuju oba sustava klasifikacije čekajući daljnja istraživanja i rezultate koji će ustanoviti bolju metodu (STERN, 2012.; SABATTINI i sur., 2015.).

Za praćenje biološkog ponašanja tumora važno je i procjenjivanje širine margina. Tako su MICHELS i sur. (2002.) uspoređivali 2 skupine životinja kod kojih su operirani

mastocitomi s marginama od 3 cm. U jednoj skupini su bile životinje kod kojih su u marginama bile vidljive tumorske stanice dok su u drugoj skupini margine bile slobodne od tumorskih stanica. Životinje s marginama slobodnim od tumora su imale prosječno vrijeme preživljavanja 53,5 mjeseci. Prosječno vrijeme preživljavanja životinja s marginama koje nisu slobodne od stanica tumora je bilo 15 mjeseci. Ukupno 45% životinja s marginama slobodnim od tumorskih stanica su razvile recidiv prosječno nakon 13 mjeseci, dok je u drugoj skupine 54% životinja razvilo recidiv prosječno nakon 7,5 mjeseci. Što se tiče lokacije recidiva, nije bilo razlike u mjestu pojavnosti recidiva između dvije skupine. Iako su recidivi češći u životinja s marginama koje nisu slobodne od tumorskih stanica, nije zabilježena veća smrtnost zbog tumora u toj skupini. Rezultati rada ovih autora pokazuju da nema razlike u smrtnosti zbog tumora između dvije skupine, ali postoji veća mogućnost da će životinja ponovno oboljeti od bolesti u slučaju neadekvatnih margina.

Još jedno istraživanje prognostičke važnosti margina je bilo rađeno na 90 uzorka mastocitoma. Njih 55 je bilo mastocitom drugog stupnja i 35 mastocitom trećeg stupnja po Patnaiku (1984.). Autori su također razvrstali mastocitome i po Kiupelovom sustavu (2011.), po kojem je 51 mastocitom bio niskog stupnja i 39 visokog stupnja. Na svim životinjama je kirurški uklonjen mastocitom s marginama širokim 3 centimetra. Zaključili su da životinje s niskim stupnjem mastocitoma imaju dobru prognozu, neovisno o širini margina slobodnih od tumorskih stanica. Naime, 29% tumora niskog stupnja je imalo margine slobodne od tumorskih stanica manje od 3 milimetra i niti jedna od tih životinja nije razvila recidiv. Samo 4% životinja s niskim stupnjem mastocitoma je razvilo recidiv, dok je 36% tumora visokog stupnja razvilo lokalne recidive unatoč potpunom uklanjanju mastocitoma s dovoljno širokim marginama. Premda u ovoj studiji nisu zasebno istraživani učinci terapije (kemoterapija i zračenje) autori misle da određivanje stupnja tumora i zahvaćenosti margina može biti korisno za uvođenje određenog terapijskog postupka s tim da bi u te postupke obavezno trebale ići

životinje s visokim stupnjem mastocitoma (DONNELLY i sur., 2013.). WEISSE i sur. (2002.) su istraživali mastocitome drugog stupnja u pasa i učestalost recidiva. Samo 11% pasa je razvilo lokalne recidive i autori zaključuju da nisu potrebne dodatne terapijske metode, poput zračenja u većine psa s kirurški potpuno odstranjenim mastocitomima.

Uz patohistološku, potrebno je provesti i detaljnu kliničku pretragu kako bi se mogle donijeti pouzdane terapijske odluke (STEFANELLO i sur., 2015.).

U zadnje vrijeme se sve više istražuju dodatne metode pretraga pomoću kojih bi se pouzdanije prognoziralo biološko ponašanje tumora. Ove dodatne dijagnostičke metode su osobito važne za procjenjivanje nepredvidivog drugog stupnja po Patnaiku. One uključuju markere stanične proliferacije (Ki67, AgNOR, c-kit). Visoki proliferacijski potencijal je povezan s bržim rastom tumora i većom mogućnošću recidiviranja i metastaziranja. Zbog toga se markeri stanične proliferacije koriste za razlikovanje benignih od malignih tumora (KANDEFER-GOLA i sur., 2015.).

Ki67 je jezgrin protein koji se aktivira u aktivnim fazama staničnog ciklusa i jedan je od najčešće istraživanih markera stanične proliferacije. Može se detektirati u gotovo svim fazama staničnog ciklusa i označava brzinu rasta, tj. djeljenu stanicu te je povećana ekspresija znak malignijeg stupnja i ponašanja mastocitom. KANDEFER-GOLA i sur., (2015) su dokazali da se Ki67 može pouzadno koristiti u Patnaikovom i Kiupelovom sustavu stupnjevanja tumora. To je potvrđeno i u istraživanjima SCASE i sur., (2006.) u kojima autori posebno ukazuju na korisnost Ki67 pri odvajanju benignijih od malignijih mastocitoma drugog stupnja po Patnaiku. WEBSTER i sur., (2007) su utvrdili da je jača ekspresija Ki67 povezana s povećanom incidencijom recidiva i smrtnosti, a VASCELLARI i sur., (2012) su našli snažnu povezanost između aktivnosti Ki67 proteina i stupnja malignosti te povećane smrtnosti. Najveća varijabilnost u ekspresiji Ki67 je pronađena u grupi drugog stupnja



mastocitoma po Patnaiku, što potvrđuje da je biološko ponašanje mastocitoma tog stupnja nepredvidljivo.

AgNOR je metoda bojenja proteina nukleolusa srebrom. Ovi proteini imaju visoki afinitet za srebro. Nakon bojenja se jasno vide u jezgri kao crne točkice. Studije su dokazale da maligne stanice redovito imaju veći broj AgNOR proteina od normalnih stanica te je njihova količina povezana s brzinom dijeljenja stanica (TRERE, 2000.). Niži broj AgNOR indicira duže vrijeme preživljavanja, a veći broj ukazuje na veću mogućnost recidiviranja i veći mortalitet (SCASE i sur., 2006.). AgNOR predstavlja brzinu stanične proliferacije, i kao takav je indikator progresivnosti mastocitoma (WEBSTER i sur., 2007.). Usporedbom triju metoda za prognozu mastocitoma (AgNOR, histopatološki stupanj i PCNA-Proliferating Cell Nuclear Antigen) na 122 uzorka mastocitoma utvrđena je značajna razlika u količini AgNOR proteina između tumora koji su recidivirali ili metastazirali i onih benignijeg ponašanja. Također su primjetili visoku korelaciju između patologa, što isključuje subjektivnost kao nedostatak ove metode (SIMOES i sur., 1994.).

C-KIT protein (CD117), tip 3 tirozin kinaza protein je uključen u rast i diferencijaciju mastocita (PREZIOSI i sur., 2004). On ima važnu ulogu u razvoju mastocitoma i bitan je prognostički faktor. Mutacije c-KIT gena dovode do konstantno aktivnog c-KIT proteina, što se može detektirati imunohistokemijski (GIL DA COSTA, 2015.). U jednoj studiji u koju je bio uključen 31 pas s mastocitomom imunohistokemijski je istraživana ekspresija c-KIT proteina (CD117). Pronađena je značajna povezanost ekspresije c-KITa s vremenom preživljavanja. Uočena su tri tipa obojenja: difuzno citoplazmatsko, membranozno i perinuklearno. Statistička analiza je pokazala mogućnost povezivanja uzorka obojenja s histološkim stupnjem. Difuzno citoplazmatsko obojenje je ukazivalo na prvi stupanj po Patnaiku, dok su mastociti s perinuklearnim obojenjem pripadali najmalignijem trećem stupnju. Zaključeno je da se pomoću ovog bojenja može predvidjeti vrijeme preživljavanja i

biološko ponašanje tumora. Drugi stupanj mastocitoma je pokazivao heterogeno obojenje. Jedini je imao membranozni uzorak bojenja, uz citoplazmatski i perinuklearni. Taj nalaz podupire neizvjesnu prognozu koja prati drugi stupanj (PREZIOSI i sur., 2004.). Agresivnije ponašanje mastocitoma povezano s jačom ekspresijom c-kit-a (PASSANTINO i sur., 2008.).

Uz ove markere stanične proliferacije kao pouzdan pokazatelj prognoze nekih tumora u pasa pokazao se mitotski indeks (MI) koji je indirektna metoda mjerenja stanične proliferacije. U jednom istraživanju mastocitoma visina MI je bila povezana s visinom stupnja tumora. Mitotski indeks je određen kao broj mitozna na 10 vidnih polja (400x). Proječno vrijeme preživljavanja pasa s  $MI \leq 5$  je bilo znatno duže (70 mjeseci) od onih s  $MI > 5$  (2 mjeseca), neovisno o stupnju tumora. Mastocitomi drugog stupnja koji su imali  $MI \leq 5$  su također živjeli duže (70 mjeseci) u usporedbi s  $MI > 5$  kod kojih je prosječno vrijeme preživljavanja bilo 5 mjeseci (ROMANSIK i sur., 2007.).

Za određivanje prognoze tumora važno je određivanje matriksne metaloproteinaze (MMP). One razgrađuju komponente ekstracelularnog matriksa, a specifični tkivni inhibitori (TIMP) kontroliraju njihovu aktivnost (VISSE i NAGASE, 2003.). Prisutnost matriksne metaloproteinaze je povezano s jačom invazivnošću tumora i metastaza. U stanicama mastocitoma je utvrđena prisutnost matriksne metaloproteinaze 2 i 9. Uspoređujući drugi i treći stupanj mastocitoma nađena je značajno veća aktivnost metaloproteinaza u stanicama mastocita trećeg stupnja u odnosu na drugi stupanj (LEIBMAN i sur., 2008.). Pretraživana je imunohistokemijskim bojenjem aktivnost MMP-2, MMP-9, TIMP-1 i TIMP-2 na 46 uzoraka mastocitoma. Cilj istraživanja je bio povezati ekspresiju tih enzima sa stupnjem mastocitoma, vremenom preživljavanja i mortalitetom. TIMP-1 ekspresija je pokazivala prognostičku vrijednost za post-operativno vrijeme preživljavanja. Psi s mastocitomom koji sadrži manje od 22.9% pozitivnih mastocita na TIMP-1 su imali 3,3 puta veću vjerojatnost da će uginuti i imati kratko postoperativno vrijeme preživljavanja, dok su psi s visokom TIMP-1 ekspresijom

imali znatno duže vrijeme preživljavanja. Taj podatak sugerira da TIMP-1 ima važnu ulogu u prevenciji širenja i progresije tumora, te on može poslužiti kao nezavisni prognostički faktor (PULZ i sur., 2016.).

Za određivanje malignosti tumora korisna je i nuklearna morfometrija. Proučavajući fizikalne karakteristike jezgre (promjer, opseg, pravilnost) STREFEZZI i sur. (2003.) su 24 mastocitoma svrstali u 3 stupnja, te ih onda usporedili s Patnaikovim histopatološkim stupnjevima. Promjer, opseg i površina jezgre su se povećivali s malignošću mastocitoma, ali statistički značajna razlika je zabilježena samo između drugog i trećeg te prvog i trećeg stupnja. Isti istraživači su 2009. godine analizirali 29 mastocitoma, tj. izmjerili su prosječnu veličinu jezgre u citološkim uzorcima. Rezultati su pokazali mogućnost razdvajanja malignijih mastocitoma drugog stupnja po Patnaiku od onih s boljom prognozom (STREFEZZI i sur., 2009.).

Mastociti sadrže serotonin, monoamin sposoban za brojne i kompleksne radnje, koje mogu utjecati na rast tumora. Imunohistokemijski je dokazano da i mastociti mastocitoma sadrže serotonin i 5-HT<sub>1A</sub> receptore. Što je mastocitom bolje diferenciran, to sadrži više serotonina i receptora. U slučaju pronalaska malog broja stanica sa serotoninom i 5-HT<sub>1A</sub>, može se pretpostaviti da je tumor zloćudniji (FRÖBERG et al., 2009.).

Na temelju određivanja svih ovih dodatnih dijagnostičkih čimbenika moguće je kvalitetnije odrediti terapiju tumora koja može značajnije utjecati na duljinu preživljavanja životinja. Tako su WEBSTER i sur. (2008.) pratili biološko ponašanje pasa s mastocitomom drugog i trećeg stupnja terapiраниh vinblastinom i prednisonom. Usporedili su vrijeme bez bolesti i vrijeme preživljavanja pasa terapiраниh vinblastinom i prednisonom s psima koji su liječeni samo kirurškim putem. Vrijeme preživljavanja i vrijeme do recidiva bolesti kod životinje s trećim stupnjem mastocitoma koje su dodatno liječene vinblastinom i prednisonom

je bilno značajno dulje nego kod životinja kod koji je samo kirurški uklonjen tumor. Oko 50% životinja je uz kemoterapiju bilo i zračeno, ali nije zabilježena značajna razlika u vremenu preživljavanja u odnosu na životinje koje su primale samo kemoterapiju. Korisnost primjene vinblastina i prednizolona spominju se u istraživanjima RUNGSIIPAT i sur. (2009.). Oni su jednu skupinu pasa s mastocitomom tretirali s vinblastinom i prednizolonom, a drugu samo s prednizolonom bez prehodnog kirurškog liječenja. Prosjek preživljavanja prve grupe je bio 101 dan, a druge grupe 175 dana. Autori su također zabilježili smanjenje aktivnosti markera proliferacije (AgNOR, Ki67, PCNA) te histološki manji broj mitozna i veću uniformnost stanica, smanjenje citoplazmatskih granula, povećanje strome i vaskularizacije slične onoj kod procesa cijeljenja granulacijskim tkivom. Učinkovitost primjene kemoterapije kod mastocitoma drugog i trećeg stupnja također opisuju THAMM i sur. (2006.). Prosječno vrijeme bez bolesti je kod ovih životinja bilo 1305 dana. Sve životinje s drugim stupnjem i 65% s trećim stupnjem mastocitoma je bilo živo nakon 3 godine. Prosječno vrijeme preživljavanja životinja s mastocitomom trećeg stupnja je bilo 1374 dana.

### **3. CILJEVI**

Glavni cilj ovog istraživanja je provjeriti vrijeme preživljavanja i vrijeme bez bolesti, odnosno vrijeme do pojave recidiva, kod različitog stupnja mastocitoma klasificiranih po trostupanjskoj klasifikaciji (PATNAIK i sur., 1984.) u pasa i usporediti rezultate istraživanja s podacima iz literature. Tumori su dostavljeni na rutinsku patohistološku dijagnostiku na Zavod za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u periodu od od 1.1.2009. do 31.12.2013.

Uz ovo također će se utvrditi učestalost pojavljivanja ovih tumora ovisno o spolu, pasmini, dobi i histopatološkom stupnju tumora u pasa u istraživanom petogodišnjem razdoblju.

Još jedan od ciljeva istraživanja je na temelju dobivenih rezultata utvrditi opravdanost primjene dvostupanjske klasifikacije mastocitoma (KIUPEL i sur., 2011.).

## 4. MATERIJALI I METODE

### 4.1. Uzorkovanje tumora

Pri izradi ovog rada korišteni su histopatološki uzorci mastocitoma u pasa iz arhiva Zavoda za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Analizirani uzorci su bili dostavljeni u razdoblju od 1.1.2009- do 31.12-2013.

### 4.2. Histopatološka pretraga

Dostavljani uzorci tkiva s tumorom su fiksirani u 10% puferiranom formalinu i uklopljeni u parafin. Bojeni su uobičajenom rutinskom hemalaun-eozin (HE) metodom, a pojedini uzorci i diferencijalnom metodom bojenja, Toluidin blue. Histopatološki uzorci tkiva su analizirani svjetlosnim mikroskopom (OLYMPUS,CX 21) pod povećanjem od 4x, 10x i 40x. Stupnjevanje tumora je provedeno po trostupanjskoj klasifikaciji.

### 4.3. Anketni listić za praćenje biološkog ponašanja tumora

Za određivanje biološkog ponašanja tumora koje je uključivalo određivanje vremena bez bolesti, odnosno vremena do pojave recidiva ili metastaza te vremena preživljavanja životinje ovisno o stupnju tumora provedena je anketiranje vlasnika životinja. Anketa je obavljena 2016. godine tj. 36 mjeseci nakon zadnjeg uzorkovanog tumora 2013. godine. Anketa je provedena telefonskim putem i uključivala je sljedeća pitanja:

- Da li je životinja živa?
- Ako nije životinja živa kada je uginula/eutanazirana?
- Koji je razlog uginuća/eutanazije?
- Da li je primjenjivana terapija nakon uklanjanja tumora?

- Da li je životinja bolovala od nekih drugih bolesti nakon dijagnoze tumora?
- Da li se tumor ponovno pojavio na istom mjestu ili nekom drugom mjestu i kada se pojavio
- Kako je to potvrđeno?
- Da li su utvrđene metastaze i kada?
- Kako su potvrđene metastaze

## 5. REZULTATI

### 5.1. Rezultati analize tumora

U istraživanom petogodišnjem razdoblju patohistološkom pretragom je dijagnosticirano 133 mastocitoma kože i potkožja na 123 psa koji su predmet ovog istraživanja.

Tijekom istraživanog razdoblja ukupno je dijagnosticirano 1977 tumora od čega su 933 bili kožni tumori (47.19%). Ukupan broj mastocitoma je bio 133 što čini 14.25% svih kožnih tumora. Podatci su prikazani u tablici 1.

Tablica 1 : Pojavnost mastocitoma u odnosu na ukupan broj tumora i ukupan broj kožnih tumora

Ukupni broj svih tumora (n+%) (Ž + M)	Tumori kože (n+%) (Ž + M)	Mastocitomi (n+%) (Ž + M)
1977 (978Ž + 999M) (49.47%Ž + 50.53%M)	933(47.19%) (302Ž + 631M) (32.37%Ž + 67.63%M)	133 (14.25%) (57Ž + 74M + 2 N) (43.51%Ž + 56.49%M)

Što se tiče pasminske distribucije, koja je prikazana u tablici 2., najzastupljenije pasmine pasa su redom bile zlatni retriever, labrador retriever, križanci, njemački bokser, mops, bulmastif, američki stafordski terijer dok je kod dvije životinje pasmina bila nepoznata.

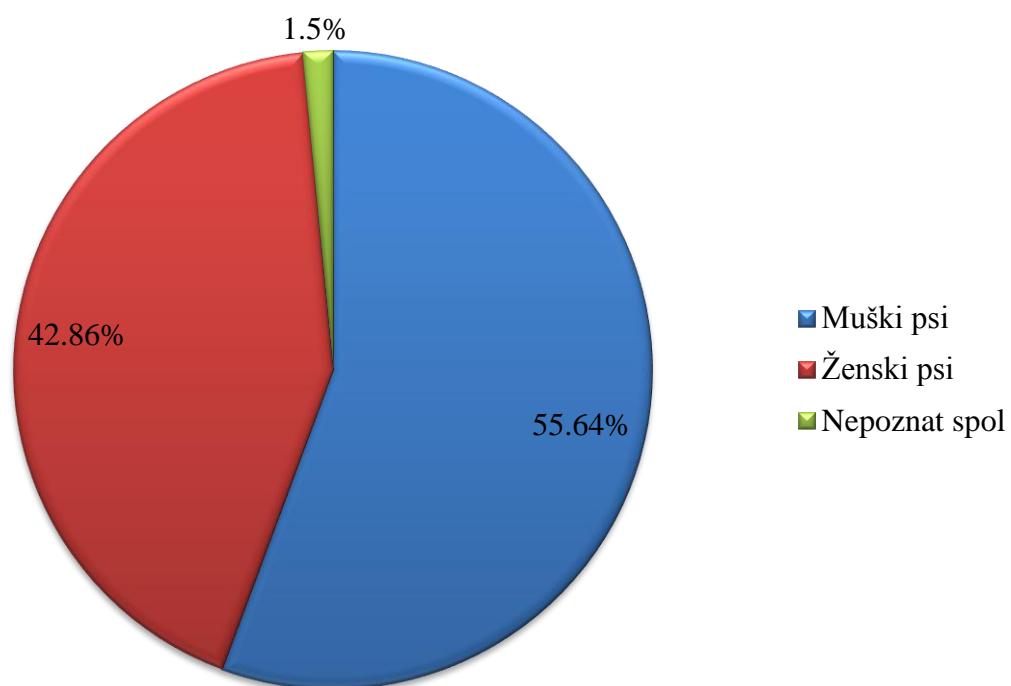


Tablica 2 : Zastupljenost pasmina u 123 pasa s mastocitomom

<b>Pasmina</b>	<b>Broj</b>	<b>Postotak</b>
Zlatni retriver	21	17.08%
Labrador retriver	19	15.45%
Križanac	18	14.64%
Njemački bokser	14	11.39%
Mops	8	6.51%
Bulmastif	5	4.07%
Američki stafordski terijer	4	3.26%
Maltezer	3	2.44%
Argentinska doga	2	1.63%
Bernski planinski	2	1.63%
Bostonski terijer	2	1.63%
Engleski seter	2	1.63%
Aljaški malamut	1	0.81%
Američki pitbul terijer	1	0.81%
Bergamski ovčar	1	0.81%
Bigl	1	0.81%
Doberman	1	0.81%
Engleski baset	1	0.81%
Francuski buldog	1	0.81%
Hrvatski ovčar	1	0.81%
Jazavčar	1	0.81%
Kerry blue terijer	1	0.81%
Koker španijel	1	0.81%
Lhasa apso	1	0.81%
Njemačka doga	1	0.81%
Njemački ovčar	1	0.81%
Patuljasti pinč	1	0.81%
Rodezijski gonič	1	0.81%
Rotvajler	1	0.81%
Srednji gubičar	1	0.81%
Tornjak	1	0.81%
Veliki gubičar	1	0.81%
Zapadnoškotski bijeli terijer	1	0.81%
Nepoznata pasmina	2	1.63%

Obzirom na spol mastocitomi su kod ženskih životinja utvrđeni u 57 (43.51%), a u muških životinja u 74 (56.49%) slučajeva dok je spol bio nepoznat u 2 životinje. Ovi podatci su prikazani u grafikonu 1.

Grafikon 1 : Zastupljenost spolova u 133 uzorka mastocitoma (123 životinje)



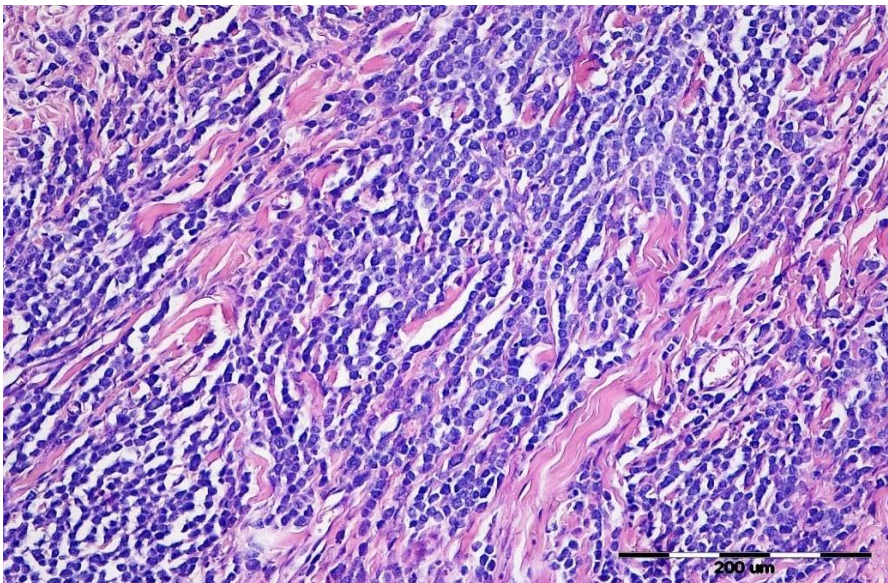
Prosječna dob životinja zahvaćenih tumorom je bila 8 godina, a raspon godina se kretao od 9 mjeseci do 16 godina.

## 5.2. Rezultati histopatološke analize

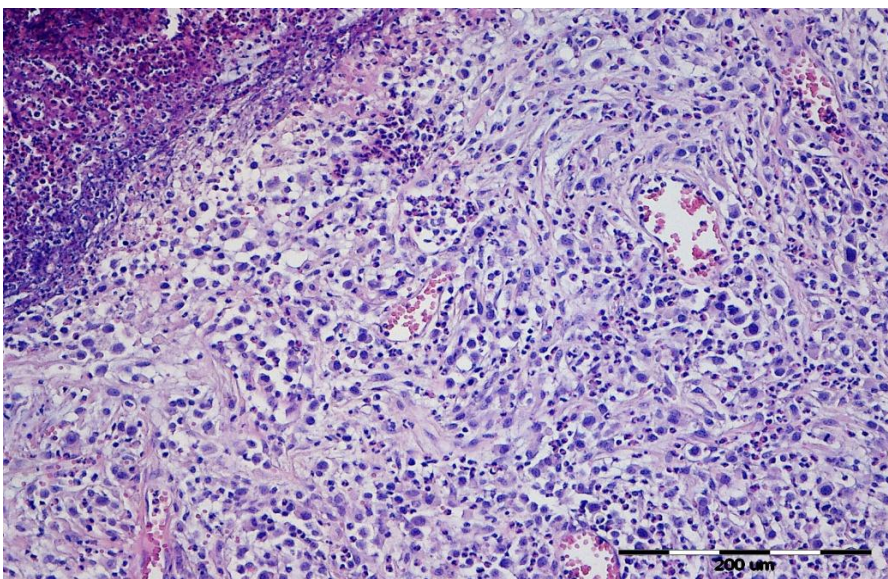
Mastocitomi su bili klasificirani po trostupanjskoj metodi po Patniaku. Preparati su bojeni rutinskom hemalaun –eozin metodom i po potrebi Toluidin blue metodom (slika 4).

Histološki izgled pojedinog stupnja tumora je vidljiv u slikama 1, 2 i 3.

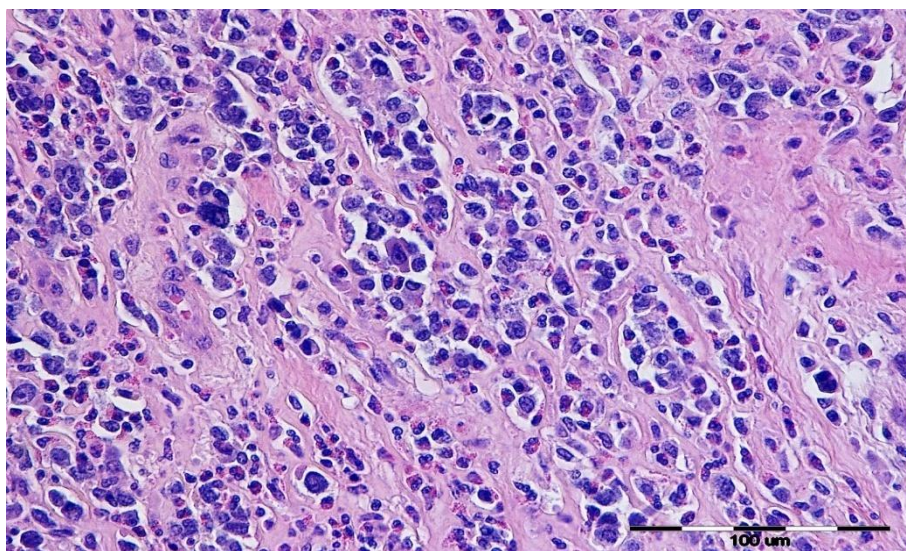
Slika 1. Mastocitom prvog stupnja, pas, HE, x 20



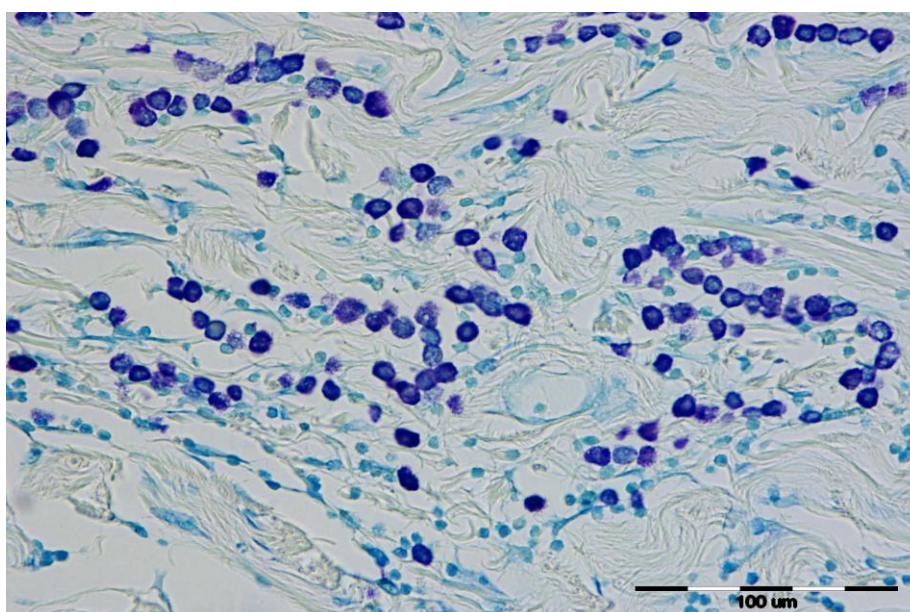
Slika 2. Mastocitom drugog stupnja, pas, HE, x 20



Slika 3. Mastocitom trećeg stupnja, pas, HE, x 40

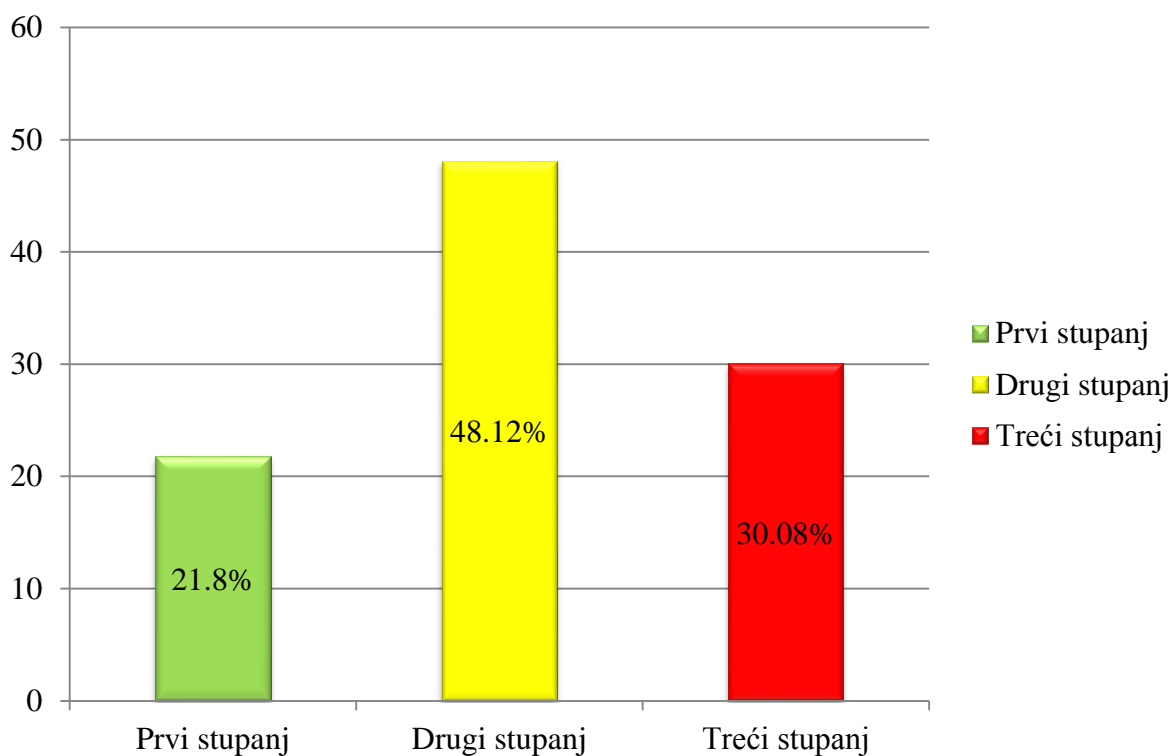


Slika 4. Mastocitom u psa, Toluidin blue, x 40



Ozirom na zastupljenost tumora u pojedinom stupnju najzastupljeniji je bio drugi stupanj s 64 mastocitoma (48.12%), a nakon toga je treći stupanj s 40 (30.08%) te na kraju prvi stupanj s 29 mastocitoma (21.8%), što je prikazano u grafikonu 2.

Grafikon 2 : Raspodjela stupnjeva mastocitoma po Patnaiku u 133 istraživana slučaja



### 5.3. Rezultati analize ankete

Biološko ponašanje tumora koje je uključivalo vrijeme preživljavanja i vrijeme bez bolesti odnosno vrijeme do pojave recidiva ili metastaziranja je procjenjivano prikupljanjem podataka anketiranjem vlasnika. Anketiranje je obavljano telefonskim putem. Na žalost anketom se nisu uspjeli prikupiti podatci za sve životinje (zbog promjene adrese i telefonskog broja vlasnika ili nepostojanja podataka o adresi vlasnika).

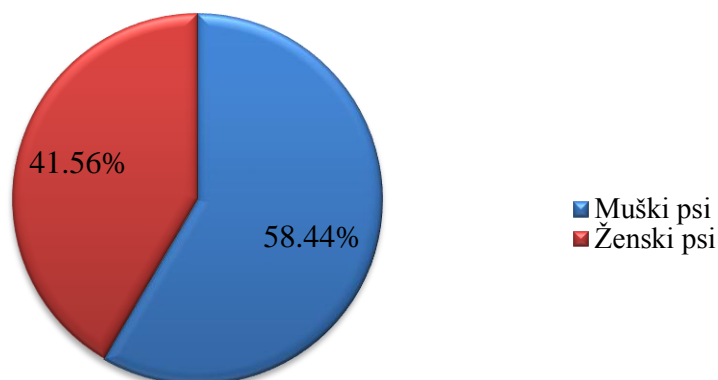
Od 123 životinje anketom se uspjelo prikupiti podatke za 77 životinja. Najzastupljenije pasmine su bile redom zlatni retriever, labrador retriever, njemački bokser, križanac, mops te pojedinačno i druge pasmine pasa što je vidljivo iz tablice 3.

Tablica 3. Zastupljenost pojedinih pasmina u anketiranoj skupini od 77 pasa s mastocitomom

<b>Pasmina</b>	<b>Broj</b>	<b>Postotak</b>
Zlatni retriver	14	18.18%
Labrador retriver	13	16.88%
Njemački bokser	12	15.58%
Križanac	11	14.28%
Mops	4	5.19%
Bullmastiff	3	3.89%
Argentinska doga	2	2.6%
Bostonski terijer	2	2.6%
Aljaški malamut	1	1.3%
Američki stafordski terijer	1	1.3%
Bergamski ovčar	1	1.3%
Bernski planinski pas	1	1.3%
Bigl	1	1.3%
Doberman pinčer	1	1.3%
Engleski seter	1	1.3%
Francuski buldog	1	1.3%
Hrvatski ovčar	1	1.3%
Jazavčar	1	1.3%
Koker španijel	1	1.3%
Lhasa apso	1	1.3%
Maltezer	1	1.3%
Njemačka doga	1	1.3%
Rotvajler	1	1.3%
Zapadnoškotski bijeli terrier	1	1.3%

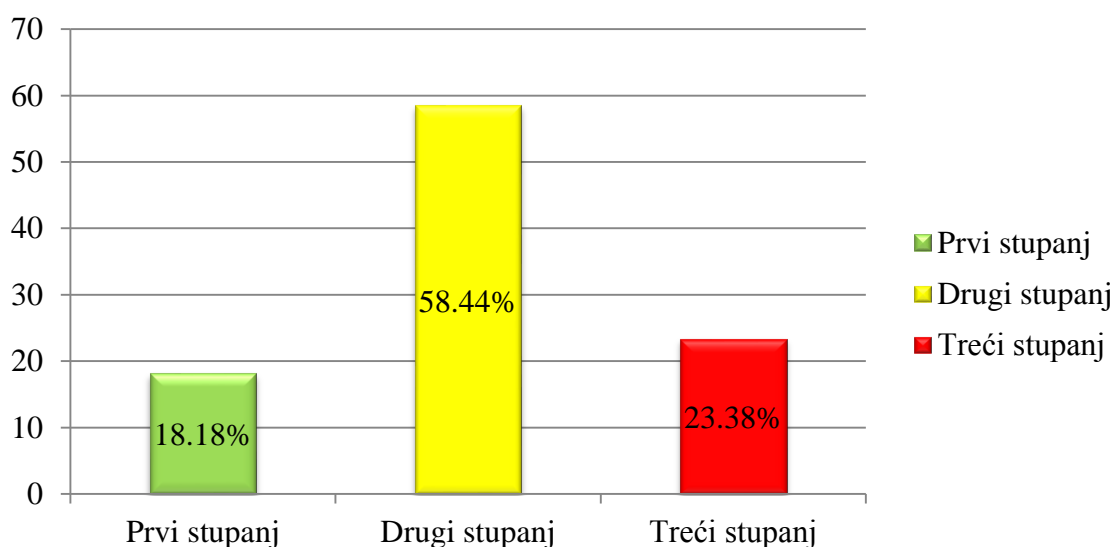
Od tih 77 životinja 45 životinja (58.44%) su bile muškog spola, a 32 (41.56%) ženskog spola što je prikazano u grafikonu 3. Prosječna dob životinja je bila 7,7 godina (raspon godina je bio od 1 do 14).

Grafikon 3 : Zastupljenost spolova u anketiranoj skupini od 77 pasa s mastocitomom



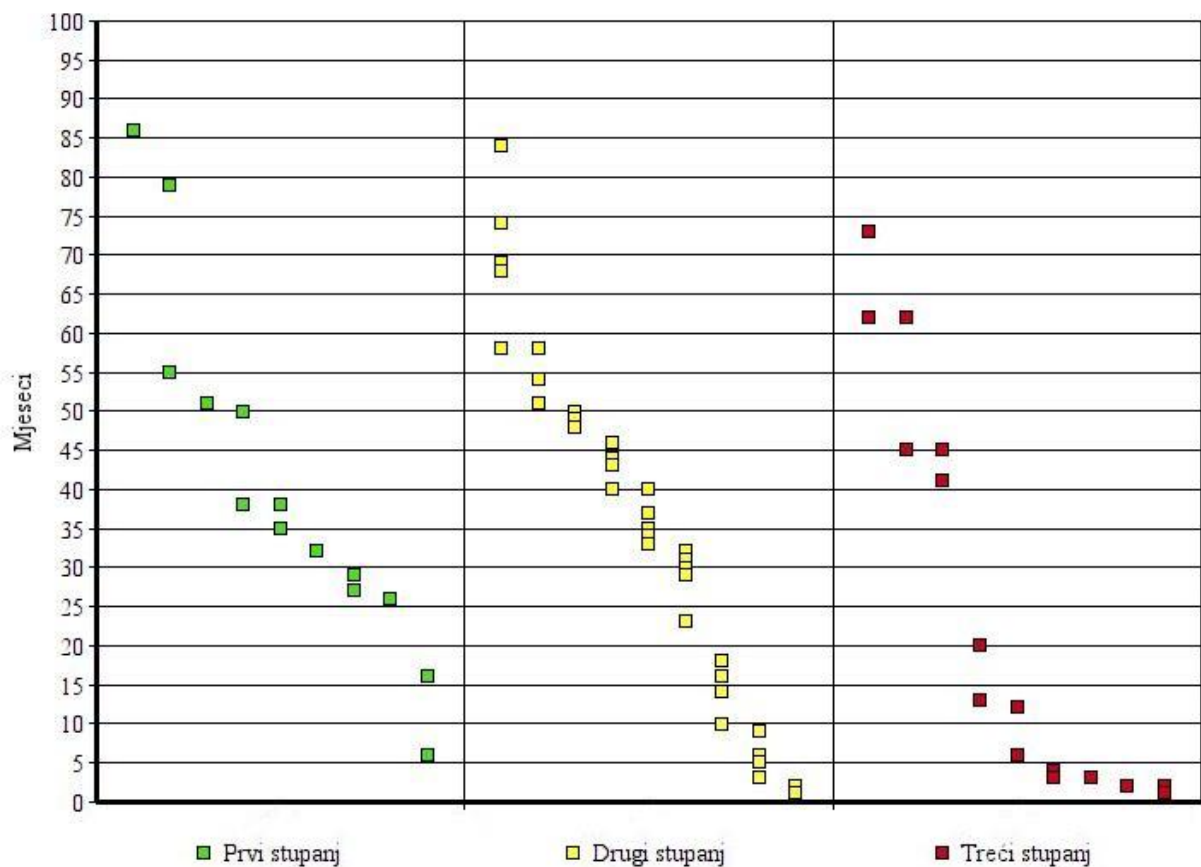
U ovih 77 životinja za koje je provedena anketa najzastupljeniji je bio drugi stupanj tumora po trostupanjskoj klasifikaciji po Patnaiku. Drugi stupanj tumora je utvrđen u 45 (58.44%) životinja. Na drugom mjestu po zastupljenosti je bio treći stupanj tumora koji je bio u 18 (23.38%) životinja dok je na trećem mjestu bio prvi stupanj tumora koji je utvrđen u 14 (18.18%) životinja. Raspodjela mastocitoma po stupnjevima je vidljiva iz grafikona 4.

Grafikon 4 : Raspodjela stupnjeva mastocitoma po Patnaiku u anketiranoj skupini od 77 pasa s mastocitomom



Vrijeme preživljavanja pasa do vremena izvođenja ankete ( kraja 2016. godine) je prikazano na grafikonu 5.

Grafikon 5 : Distribucija vremena preživljavanja pojedinih pasa ovisno o stupnju mastocitoma (ukupan broj pasa 77)

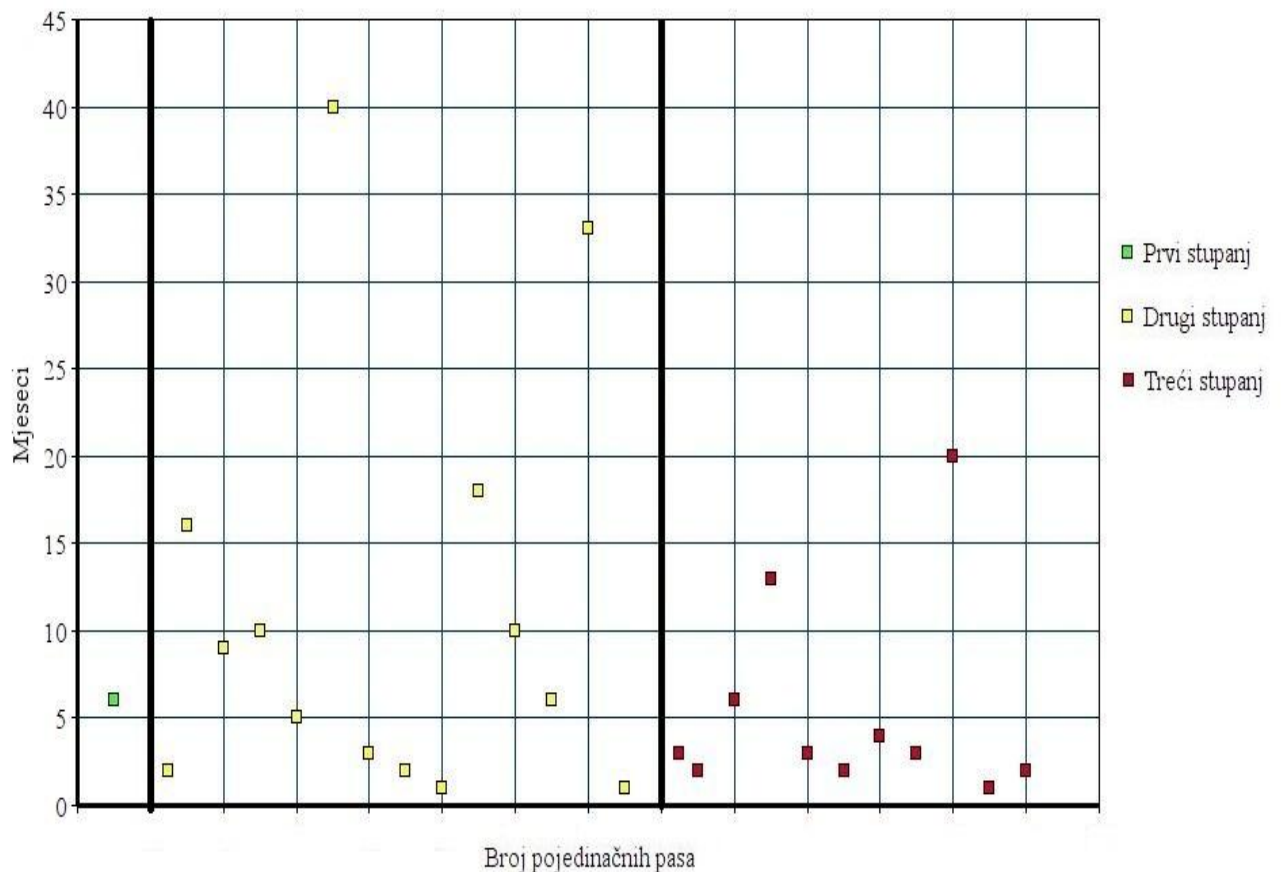


Prosječno vrijeme preživljavanja svih 77 pasa je bilo 32,7 mjeseci. Međutim treba napomenuti da su 34 (44.16%) životinje bile žive u trenutku izvođenja ankete dok su 43 (55.84%) životinje uginule. Prosječno vrijeme preživljavanja od uginulih pasa je bilo 20,1 mjesec.



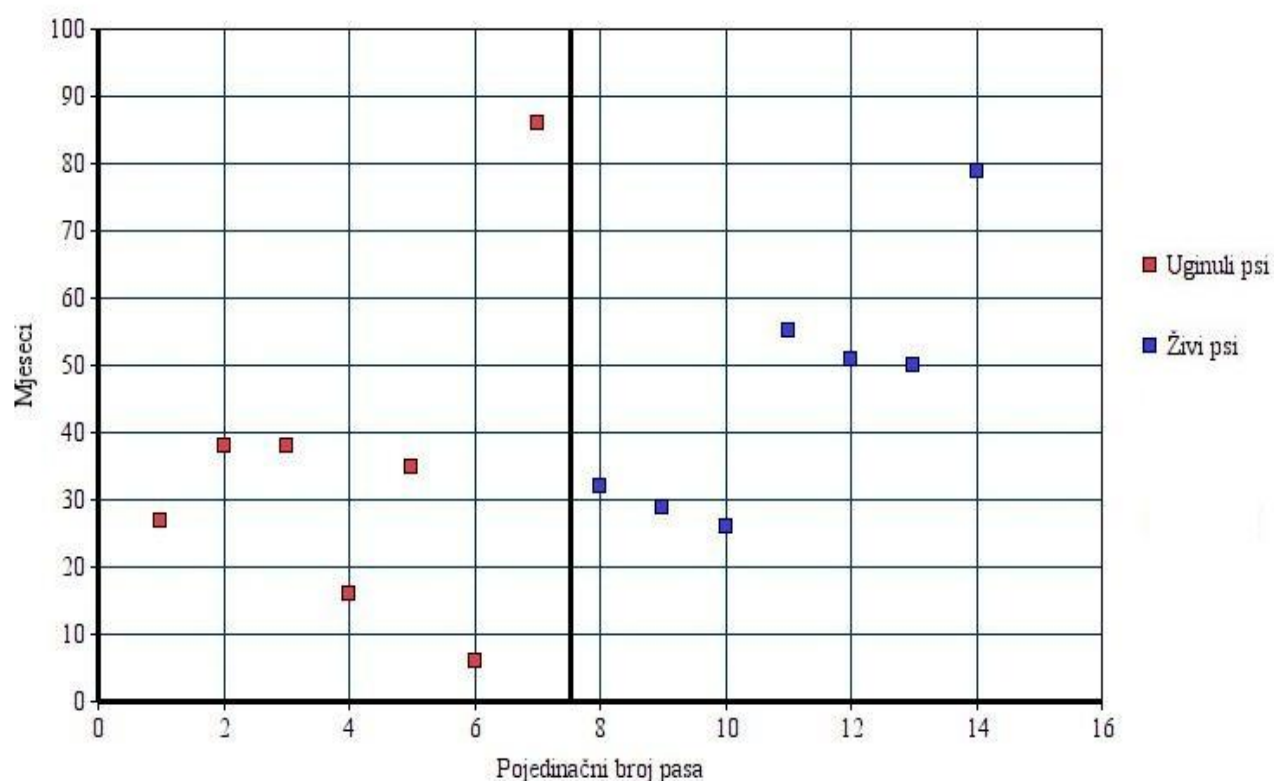
Od 43 uginula psa njih 26 je uginulo zbog posljedica mastocitoma. Njihovo prosječno vrijeme preživljavanja je bilo 8,5 mjeseci, a pojedinačno vrijeme preživljavanja je prikazano na grafikonu 6. Od tih pasa 1 (3.85%) je imalo mastocitom prvog stupnja, 14 (53.85%) pasa mastocitom drugog te 11 (42.3%) pasa mastocitom trećeg stupnja. Treba ponovno naglasiti da su podatci dobiveni na temelju anketiranja vlasnika i da se utvrđivanje razloga uginuća životinje iznimno rijetko provodilo.

Grafikon 6 : Pojedinačno vrijeme preživljavanje 26 pasa uginulih zbog mastocitom



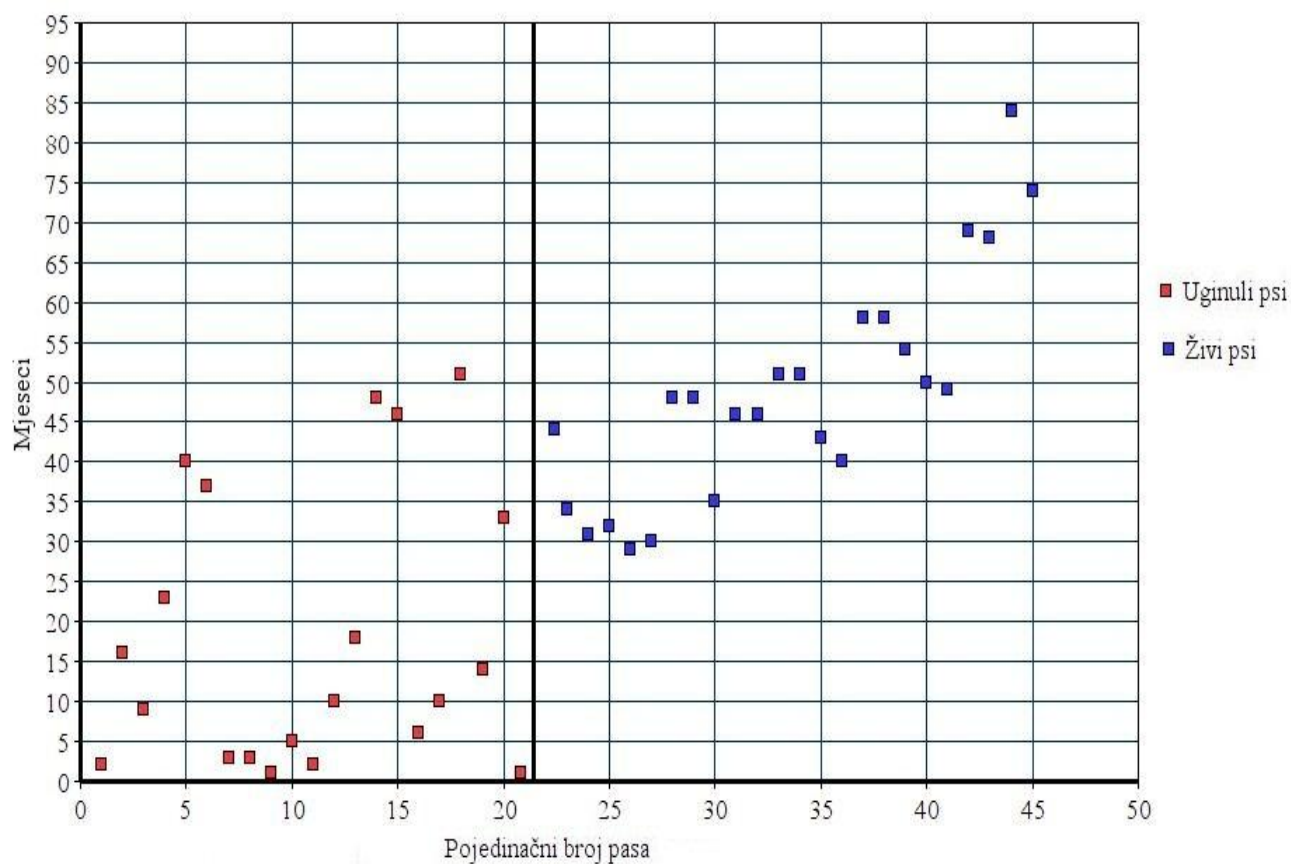
Prosječno vrijeme preživljavanja životinja s prvim stupnjem mastocitoma, koji je utvrđen u 14 životinja, je bilo 40,5 mjeseci s tim da je 7 životinja uginulo, a 7 živo. Prosjek preživljavanja uginulih životinja je bio 35,1 mjesec. Samo je jedan pas uginuo zbog mastocitoma 6 mjeseci nakon dijagnoze . U 7 pasa su se pojavile ponovno tumorozne tvorbe prosječno nakon 17 mjeseci. Prosjek preživljavanja pasa s ponovnim javljanjem tumoroznih tvorbi je 45,5 mjeseci, dok je prosječno vrijeme preživljavanja uginulih pasa kod kojih su se pojavile nove tvorbe 41,1 mjesec. Ovi podatci su prikazani u grafikonu 7.

Grafikon 7 : Pojedinačno preživljavanje 14 pasa s mastocitomom prvog stupnja



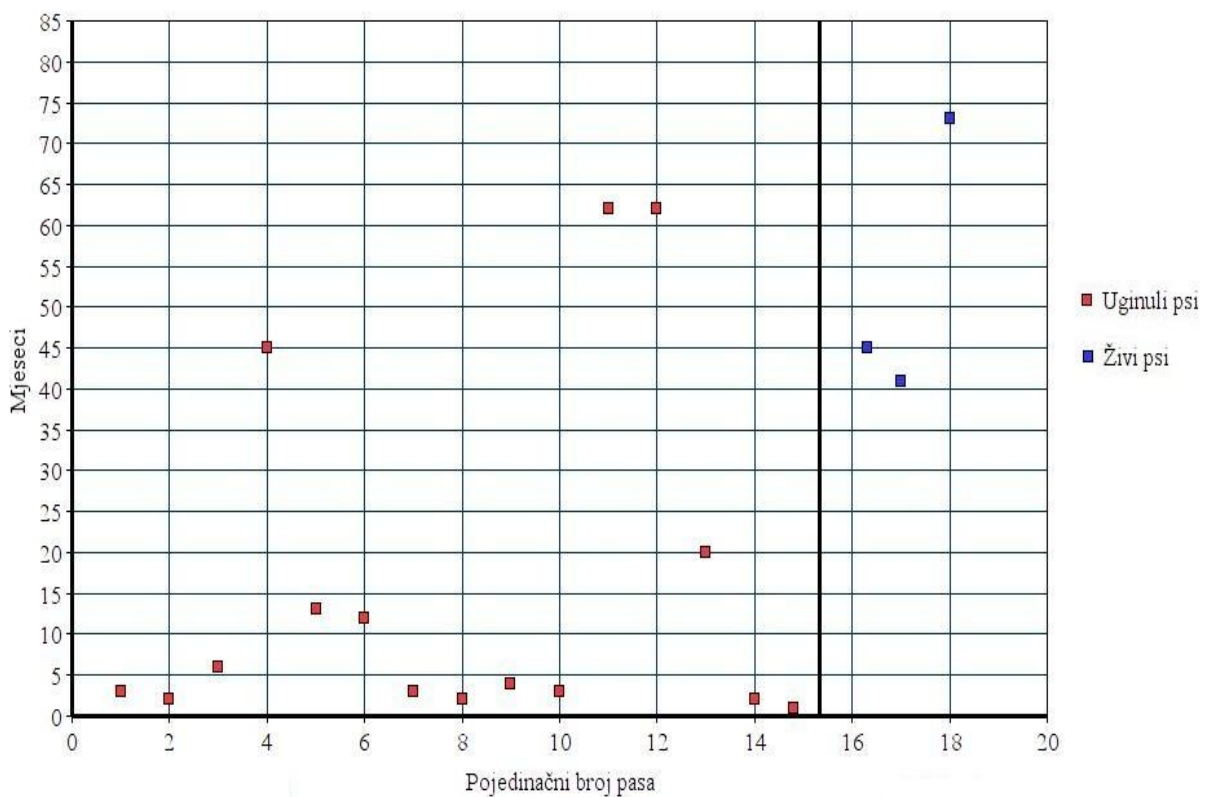
Prosječno vrijeme preživljavanja životinja s drugim stupnjem mastocitoma, koji je utvrđen u 45 životinja, je bilo 34,4 mjeseci. Od 45, njih 21 je do izvođenja ankete uginulo i njihovo prosječno vrijeme preživljavanja je 18 mjeseci s tim da treba naglasiti da je 14 pasa uginulo zbog mastocitoma prosječno nakon 11,1 mjesec (raspon 1-40). U 25 pasa su se ponovno pojavile tumorozne tvorbe prosječno nakon 14,4 mjeseci (raspon 1-47). Njihovo prosječno vrijeme preživljavanja je 33,2 mjeseci. Prosječno vrijeme preživljavanja uginulih pasa kod kojih su se pojavile nove tvorbe je 13,4 mjeseci. Prikaz vremena preživljavanja pojedinih životinja s drugim stupnjem tumora je vidljiv iz grafikona 8.

Grafikon 8 : Pojedinačno preživljavanje 45 pasa s mastocitomom drugog stupnja



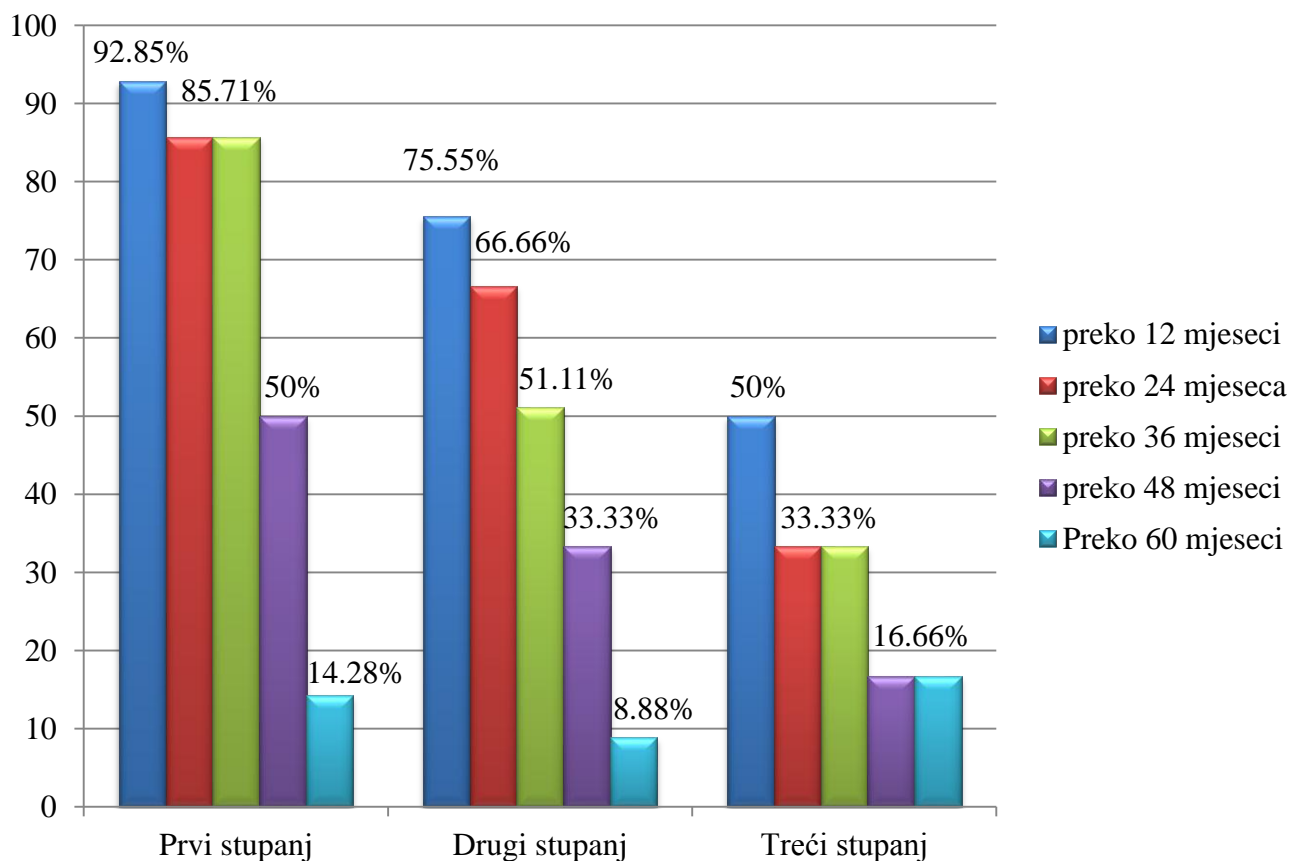
Prosječno vrijeme preživljavanja životinja s trećim stupnjem mastocitoma, koji je utvrđen u 18 životinja, je bilo 22,2 mjeseca što je prikazano pojedinačno za svaku životinju u grafikonu 9. Od ukupnog broja pasa s mastocitomom ovog stupnja 15 životinja je uginulo, a 3 su žive. Prosjek preživljavanja uginulih životinja je 16 mjeseci. Od njih 15, mastocitom je bio uzrok uginuća u 11 životinja kod kojih je prosječno vrijeme preživljanja bilo 5,3 mjeseci. U 7 pasa su se ponovno javile tumorozne tvorbe prosječno nakon 14,4 mjeseci (raspon 1-65), te je njihovo prosječno vrijeme preživljavanja 21,1 mjesec. Prosječno vrijeme preživljavanja uginulih pasa kod kojih su se pojavile nove tvorbe je 6 mjeseci

Grafikon 9 : Pojedinačno preživljavanje 18 pasa s mastocitomom trećeg stupnja



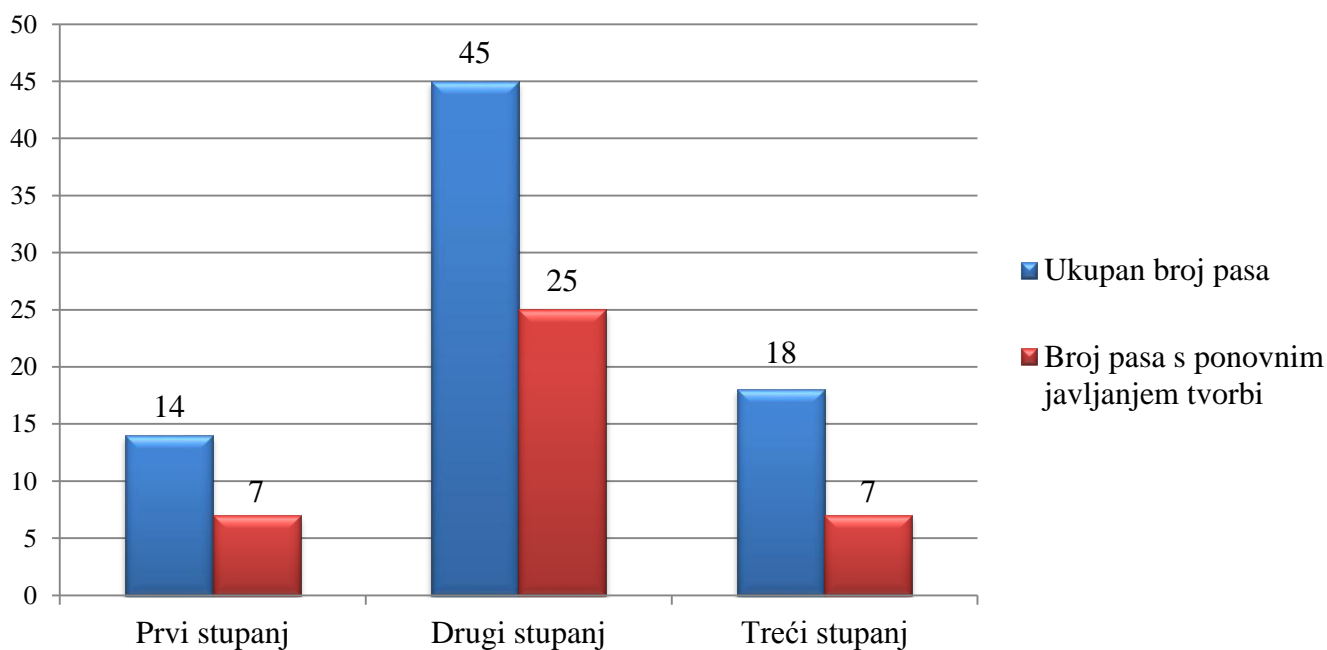
Anketiranjem vlasnika 77 životinja dobiveni su rezultati koji pokazuju povezanost stupnja mastocitoma s duljinom vremena preživljavanja pasa izraženu u postotcima što prikazuje grafikon 10. Iz grafikona je vidljivo da je u prvom stupnju preživljavanje preko 12 mjeseci bilo 92.85% dok je u drugom stupnju bilo 75.55%, a trećem 50%. Preživljavanje dulje od 24 mjeseca u prvom stupnju je bilo kod 85.71% životinja, u drugom stupnju kod 66.6% i u trećem kod 33.3% životinja. U 85.71% životinja prvog stupnja preživljavanje je bilo dulje od 36 mjeseci, a u drugom stupnju 51.11% i trećem 33.3%. Polovica životinja iz prvog stupnja je preživjela dulje od 48 mjeseci dok je u drugom stupnju preživjelo 33.3% životinja, a u trećem 16.6%. I na kraju 14.28% životinja iz prvog stupnja je preživjelo dulje od 60 mjeseci dok je u drugom stupnju preživjelo 8.88%, a u trećem 16.6%.

Grafikon 10 : Postotak preživjelih pasa i vrijeme preživljavanja ovisno o stupnju mastocitoma u anketiranoj skupini od 77 pasa s mastocitomom



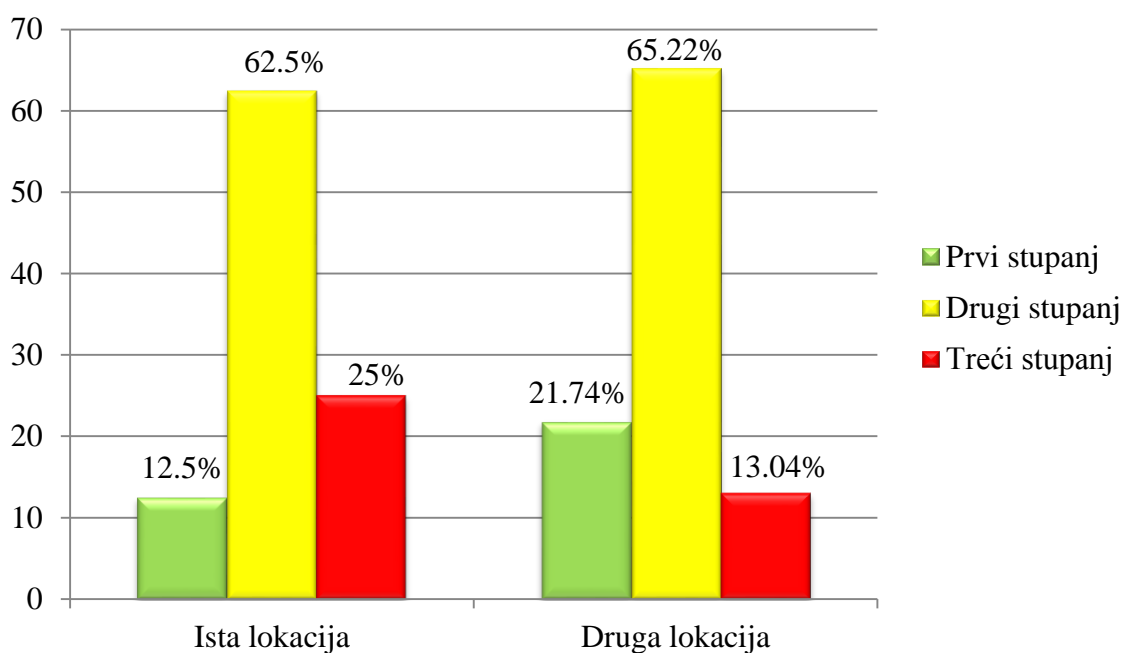
Ponovno pojavljivanje tumoroznih tvorbi je utvrđeno u 39 (50.65%) od 77 životinja prosječno nakon 14,8 mjeseci (raspon je bio od 1-65 mjeseci) nakon prve dijagnoze mastocitoma. U 4 psa se ne zna točno vrijeme ponovnog pojavljivanja tumora. Zastupljenost ovih tumora po stupnjevima je prikazana u grafikonu 11. Prosječno vrijeme preživljavanja svih životinja kod kojih su se ponovno pojavile tvorbe je 33,3 mjeseci. Od 39 pasa do izvođenja ankete uginuo je 21 pas i njihovo prosječno vrijeme preživljavanja bilo 17 mjeseci. Posebno treba naglasiti da je od 39 životinja kod kojih su se pojavile ponovno tumorozne tvorbe samo u 16 pasa recidiv potvrđen dijagnostičkom pretragom (12 histopatološkom pretragom, 3 citološkom pretragom i 1 metastaza u unutarnje organe ultrazvukom).

Grafikon 11 : Ukupan broj pasa s određenim stupnjem tumora i broj pasa s ponovnim pojavljanjem tvorbi u tom stupnju



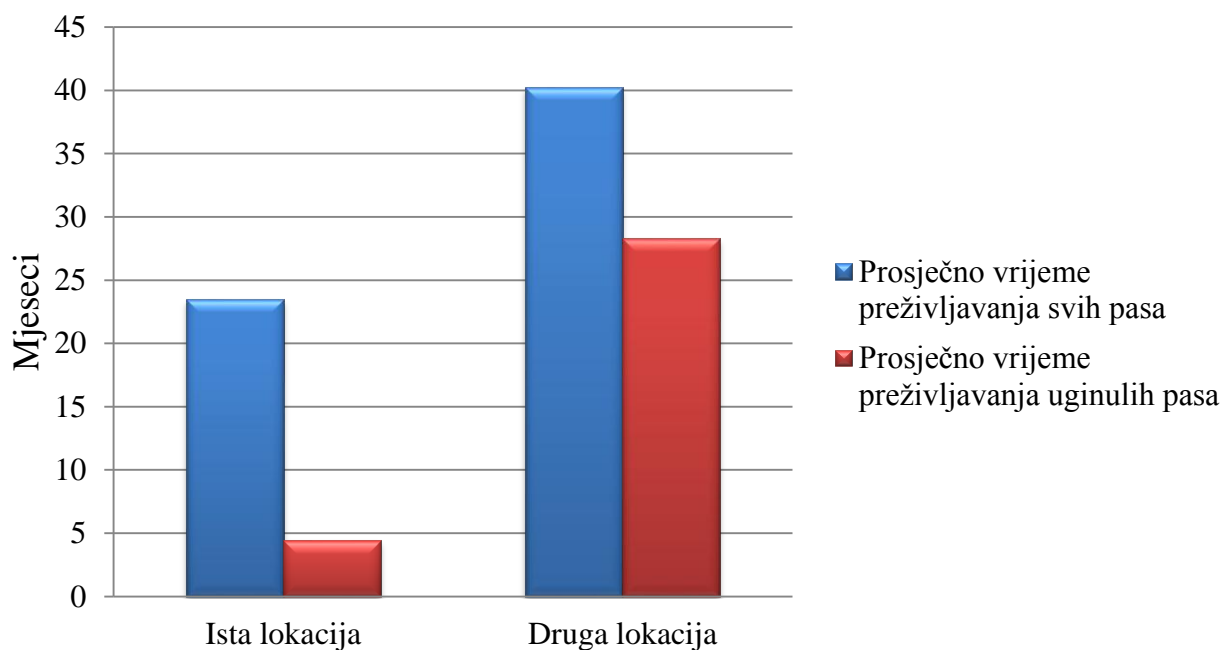
Što se tiče lokacije tumora u 23 (58.97%) pasa nove tvorbe su se pojavile na drugoj lokaciji dok su se u 16 (41.03%) životinja pojavile na istoj lokaciji. Prikaz lokacije i stupnjeva recidiva tumora je prikazan u grafikonu 12.

Grafikon 12 : Raspodjela 39 pasa s recidivom po stupnjevima ovisno o lokaciji recidiva(%)



Ponovno pojavljivanje bolesti na istoj lokaciji je bilo znatno ranije, tj. prosječno nakon 8 mjeseci u usporedbi s pojavnošću na drugim lokacijama gdje je ono bilo 20,5 mjeseci. Prosječno vrijeme preživljavanja pasa s recidivom na istoj lokaciji je bilo 23,5 mjeseci, s tim da je 10 životinja uginulo te je njihovo prosječno vrijeme preživljavanja bilo samo 4,4 mjeseca. Prosjek preživljavanja pasa s recidivom na drugoj lokaciji je bilo 40,2 mjeseca s tim da je 11 životinja uginulo i njihovo prosječno vrijeme preživljavanja je bilo 28,3 mjeseci što je vidljivo iz grafikona 13.

Grafikon 13 : Usporedba prosječnog vremena preživljavanja 39 pasa s ponovnim pojavljanjem tumoroznih tvorbi ovisno o lokaciji recidiva



Informacije o stupnju tumora u recidivu smo dobili za samo 10 životinja, uglavnom zbog nemogućnosti vlasnika da se sjete detaljnijih informacija. U 6 pasa recidiv je bio višeg stupnja od prvobitnog tumora, dva recidiva su bila istog stupnja, a dva nižeg stupnja maligniteta.

Šest životinja je primilo kemoterapiju nakon operacije. Od tih 6 životinja 4 su imale mastocitom drugog stupnja i 2 mastocitom trećeg stupnja. Prosječno vrijeme preživljavanja 4 životinje s mastocitomom drugog stupnja je bilo 49,5 mjeseci, s time da su tri životinje i danas žive. Obje životinje s trećim stupnjem mastocitoma su uginule, jedna nakon 13, a druga nakon 3 mjeseca.



## RASPRAVA

### 1. Rezultati analize tumora vezani za pasminsku, spolnu i dobnu distribuciju

U ovom radu su istraživani mastocitomi u pasa u petogodišnjem razdoblju u kojem su bila ukupno dijagnosticirana 133 mastocitoma što je 14.25% svih tumora kože. Ovi podatci su slični podacima iz literature (WELLE i sur., 2008.; MAULDIN I PETERS-KENNEDY, 2016.). Obzirom da se putem ankete koja je provedena zbog utvrđivanja biološkog ponašanja tumora (vremena preživljavanja i vremena do ponovnog pojavljivanja bolesti) nije uspjelo doći do svih vlasnika već samo do vlasnika 77 životinja tako da je ovdje posebno izdvojena spolna, dobna i pasminska predispozicija za ovu skupinu životinja. Prosječna dob svih životinja s tumorom je bila 8 godina s rasponom od 9 mjeseci do 16 godina. U ovoj izdvojenoj skupini od 77 životinja prosječna dob je bila 7,7 godina, s rasponom godina od 1 do 14. Ovi podatci su također u suglasju s brojnim navodima iz literature (GOLDSCHMIDT i SHOFER, 1992.; SIMOES i sur., 1994.; GOLDSCHMIDT i HENDRICK, 2002.; WEBSTER i sur., 2007.; THOMPSON i sur., 2011.; STEFANELLO i sur., 2015.).

Što se tiče spolne predispozicije tumori su bili nešto češći u muških životinja kojih je bilo 74 (56.49%), a ženskih 57 (43.51%). Slično je bilo i u izdvojenoj skupini u kojoj je 45 životinja (58.44%) bilo muškog spola i 32 (41.56%) ženskog spola. Drugi autori navode da nema spolne predispozicije ili da su ženske životinje nešto sklonije pojavi bolesti (GOLDSCHMIDT I SHOFER, 1992.; SIMOES i sur., 1994.; GOLDSCHMIDT I HENDRICK, 2002.; WEBSTER i sur., 2007.; THOMPSON i sur., 2011.; VASCELLARI i sur., 2012.; STEFANELLO i sur., 2015.).

U ukupnoj populaciji pasa u kojoj je u petogodišnjem razdoblju dijagnosticiran mastocitom najzastupljenija pasmine su bile zlatni retriever, labrador retriever, križanac, njemački bokser, mops i bulmastif. Iste pasmine se pojavljuju u izdvojenoj skupini od 77

pasa. Ovi podaci su u suglasju s podacima iz literature (GOLDSCHMIDT I SHOFRER, 1992.; SIMOES i sur., 1994.; WEBSTER i sur., 2007.; THOMPSON i sur., 2011.).

## 2. Rezultati histopatološke analize

Rezultati histopatološke klasifikacije istraživanih arhiviranih tumora koja je obavljena po trostupanjskom modelu (PATNAIK i sur., 1984.) ukazali su da je kod 133 tumora najzastupljeniji drugi stupanj, a nakon toga treći pa prvi stupanj. Sličan odnos je bio i u anketiranoj skupini. I mnogi drugi autori navode drugu stupanj kao najzastupljeniji, dok zastupljenost prvog i trećeg stupnja varira od autora do autora (SIMOES i sur., 1994.; VAN GELDEREN i sur., 2011.; POGGIANI i sur., 2012.; SABATTINI i sur., 2015.; STEFANELLO i sur., 2015.; PULZ i sur., 2016.). Upravo ova činjenica sugerira upotrebu dvostupanjske klasifikacije zbog velike varijabilnosti u histološkom stupnjevanju po Patnaiku.

## 3. Rezultati biološkog ponašanja tumora dobiveni anketiranjem vlasnika

Da bi se utvrdilo vrijeme preživljavanja i vrijeme bez bolesti odnosno vrijeme do pojave recidiva ili metastaza provedena je anketiranje vlasnika. Kako je već ranije spomenuto do svih vlasnika se nije moglo doći već se uspjelo anketirati 77 vlasnika. Dobiveni rezultati koji su se odnosili na duljinu preživljavanja za prvi stupanj su slični onima koje navode PATNAIK i sur. (1984.), tj. oko 90% životinja je preživjelo preko 3 godine. Ovaj podatak se približno poklapa s istraživanjima drugih autora (VASCELLARI i sur., 2012.). U drugom stupnju prosječno preživljavanje je bilo kraće nego u prvom stupnju što je u skladu s podacima iz literature (PATNAIK i sur., 1984.; KIUPEL i sur., 2011.; VASCELLARI i sur., 2012.; SABATTINI i sur., 2015.). PATNAIK i sur. (1984.) navode da je 55% životinja s

drugim stupnjem mastocitoma preživjelo preko 3 godine, što se podudara s rezultatima našeg rada (51.11%). Međutim neki autori navode i veći postotak preživljavanja kod ovog stupnja tumora (KIUPEL i sur., 2011.; VASCELLARI i sur., 2012.; SABATTINI i sur., 2015.). I ovi podaci o raznolikosti rezultata što se tiče vremena preživljavanja također ukazuju na potrebu primjene dvostupanjske klasifikacije. U trećem stupnju 33.33% životinja je preživjelo preko 3 godine. Većina autora navodi kraće vrijeme preživljavanja pasa s trećim stupnjem mastocitoma (PATNAIK i sur., 1984.; KIUPEL i sur., 2011.; SABATTINI i sur., 2015.). U njihovim istraživanjima 10-25% životinja s mastocitomom trećeg stupnja preživi preko 3 godine. Razlike u rezultatima o duljini vremena preživljavanja između autora ukazuju na potrebu uvođenja i dodatnih dijagnostičkih postupaka uz uvođenje dvostupanjske klasifikacije, a koji bi nam bolje ukazali na prognozu biološkog ponašanja, a koristili bi i kliničarima pri određivanju terapije tumora.

Što se tiče pojave recidiva u našem istraživanju povovno pojavljivanje tumoroznih tvorbi je bilo kod 39 od 77 životinja (50.65%). Sličan postotak navode i neki drugi autori (MICHELS i sur., 2002.; POGGIANI i sur., 2012.). Prosječno vrijeme do pojave recidiva za prvi stupanj je bilo 17 mjeseci, za drugi 14,4, a za treći 14,4. Nažalost, samo u 16 životinja je potvrđeno histološkom ili citološkom pretragom da se radilo o ponovnom pojavljivanju mastocitoma. Od toga u 5 (31.25%) slučajeva tumori su se pojavili na istom, u 11 (68.75%) na drugom mjestu. Sličnu distribuciju recidiva su našli i neki drugi autori (WEISSE i sur., 2002.; SÉGUIN i sur., 2006), dok MICHELS i sur. (2002.) navode čak 80% recidiva na drugoj lokaciji. Ovaj podatak nam govori da se recidivi mogu pojaviti unatoč potpunom kirurškom uklanjanju mastocitoma. Analiza pokazuje da psi koji razviju recidive imaju lošiju dugoročnu prognozu u usporedbi s životinjama koje ne obole ponovno. Po našim rezultatima, psi koji razviju recidive na istoj lokaciji imaju znatno lošiju prognozu o odnosu na pse koji imaju recidive na drugim lokacijama. Zbog malog broja potvrđenih slučajeva recidiva

mastocitoma teško je govoriti o duljini vremena koje prođe do pojave recidiva pa i ove rezultate treba uzeti s rezervom. Problem se očito pojavljuje najčešće zbog neodgovarajućih uputa od strane veterinara (kirurga) vlasniku ili nemogućnosti vlasnika da kontrolira životinju iz ekonomskih razloga. Na pojavnost recidiva znatno utječe i širina margina pri uklanjanju tumora. U našem slučaju podatci o marginama nisu dostupni. MICHELS i sur. (2002.) navode kako postoji veća mogućnost ponovnog oboljenja životinje u slučaju neadekvatnih margina, a tumori većeg stupnja malignosti češće recidiviraju od tumora niskog stupnja neovisno o širini margina (DONNELLY i sur., 2013.).

U našoj anketiranoj skupini od 77 životinja, samo 6 je bilo podvrgnuto kemoterapiji od kojih su 4 imale mastocitom drugog stupnja i 2 trećeg stupnja. Iako se radi o vrlo malom uzorku tretiranih životinja rezultati pokazuju korisnost kemoterapije u životinja s malignijim stupnjevima tumora te se u tome i slažu s podacima iz literature (THAMM i sur., 2006.; WEBSTER i sur., 2008.;). Naime terapirane životinje s drugim stupnjem mastocitoma su prosječno živjele skoro 15 mjeseci duže od svih neterapiranih životinja s drugim stupnjem mastocitoma s tim da su 3 terapirane životinje bile još žive u trenutku provođenja ankete. Budući da je vrijeme preživljavanja znatno duže u tretiranih nego netretiranih životinja s kemoterapeuticima veterinari (kirurzi) bi trebali češće razmotriti opciju dodatnih metoda liječenja za pacijente s mastocitomom visokog stupnja malignosti.

Statistička obrada podataka s određivanjem statističke značajnosti razlika te korelacije između pojedinih skupina nije rađena zbog relativno malog broja životinja u pojedinim skupinama te velike varijabilnosti rezultata unutar i između skupina.

## ZAKLJUČCI

1. Pojavnost, udio mastocitoma u kožnim tumorima u pasa, dobna i pasminska predispozicija su u suglasju s literaturnim podacima dok su u našem istraživanju tumori bili zastupljeniji u muških životinja.
2. Mastocitomi drugog stupnja po trostupanjskoj klasifikaciji su bili najzastupljeniji što sugerira potrebu uvođenja dvostupanjske klasifikacije za uklanjanje ili smanjivanje varijabilnosti između patologa pri određivanju stupnja mastocitoma.
3. Prosječno vrijeme preživljavanja za prvi stupanj je bilo 40,5 mjeseci, za drugi stupanj 34,4 mjeseca i za treći stupanj 22,2 mjeseca.
4. Ponovno pojavljivanje tumoroznih tvorbi je bilo u 39 (50.64%) od 77 životinja od kojih su samo u 16 (41.02%) životinja mastocitomi potvrđeni patohistološkom ili citološkom pretragom.
5. Od ukupnog broja pasa s mastocitomom (123) u 10 životinja su patohistološkom pretragom na našem Zavodu potvrđeni recidivi koji su u 6 životinja višeg stupnja, a u po dvije životinje istog i nižeg stupnja. Od 16 potvrđenih recidiva samo u tri životinje je poznat stupanj tumora i on je bio višeg, istog ili nižeg stupnja maligniteta.
6. Pri pojavi recidiva na istoj lokaciji primarnog tumora vrijeme preživljavanja je bilo znatno kraće nego pri pojavi tumora na drugim lokacijama.
7. Prosječno vrijeme preživljavanja životinja s recidivom određenog stupnja je bilo kraće u usporedbi s istim stupnjem bez recidiva.
8. Životinje s drugim stupnjem tumora koje su bile na kemoterapiji, unatoč malom uzorku, su imale znatno dulje vrijeme preživljavanja od neterapiranih.

9. Naše istraživanje ukazuje na potrebu uvođenja dvostupanjske klasifikacije mastocitoma i dodatnih dijagnostičkih postupaka za bolje predviđanje biološkog ponašanja i određivanje terapije.

10. Naše istraživanje također ukazuje na potrebu stvaranja protokola praćenja životinje s dijagnozom mastocitoma (dijagnoza, terapija, recidiv ili metastaza, vrijeme preživljavanja).

## REFERENCE

ARTUKOVIĆ, B., L. MEDVEN, M. HOHŠTETER, I.-C. ŠOŠTARIĆ-ZUCKERMANN, A. GUDAN KURILJ, A. BECK, D. HUBER, D. GRABAREVIĆ, K. SEVERIN, Ž. GRABAREVIĆ (2014) : Prevalence of cutaneous mast cell sarcoma in dogs in Croatia. *Vet. arhiv* 84, 601-614.

BLACKWOOD, L., S. MURPHY, P. BURACCO, J. P. DE VOS. P. DE FORNEL – THIBAUD, J. HIRSCHBERGER, M. KESSLER, J. PASTOR, F. PONCE, K. SAVARY – BATAILLE, D. J. ARGYLE (2012) : European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Vet. Comp. Oncol.* 10, 1-29.

CAHALANE, A. K., S. PAYNE, L. G. BARBER, L. E. DUDA, C. J. HENRY, G. E. MAULDIN, A. E. FRIMBERGER, S. M. COTTER, A. S. MOORE (2004) : Prognostic factors for survival of dogs with inguinal and perineal mast cell tumors treated surgically with or without adjunctive treatment : 68 cases (1994-2002). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 225, 401-408.

DONNELLY, L., C. MULLIN, J. BALKO, M. GOLDSCHMIDT, E. KRICK, C. HUME, D. C. BROWN, K. SORENMO (2013) : Evaluation of histological grade and histologically tumour-free margins as predictors of local recurrence in completely excised canine mast cell tumours. *Vet. Comp. Oncol.* 13, 70-76.

DOS SANTOS COSTA POGGIANI, S., E. M. TERRA, R. TORRES NETO, M. T. COSTA, R. L. AMORIM (2012) : Canine Cutaneous Mast Cell Tumor : Biologic Behavior and Its Correlation with Prognostic Indicators. *Open J. Vet. Med.* 2, 255-261.

FRÖBERG G. K., R. LINDBERG, M. RITTER, K. NORDLIND (2009) : Expression of serotonin and its 5-HT1A receptor in canine cutaneous mast cell tumours. *J. Comp. Pathol.* 141, 89-97.

GIL DA COSTA, R. M. (2015) : C-kit as a prognostic and therapeutic marker in canine cutaneous mast cell tumours : From laboratory to clinic. *Vet. J.* 205, 5-10.

GOLDSCHMIDT, M. H., M.J. HENDRICK (2002) : Tumors of the skin and soft tissues U : Tumors in domestic animals (Meuten, D. J. Ed.), Iowa State Press, Iowa, pp. 45-117.

GOLDSCHMIDT, M. H., F.S. SHOFER (1992) : Mast cell tumors. U: Skin tumors of the dog and cat. (Goldschmidt, M. H., F. S. Shofer, Eds.), Butterworth Heinemann, Oxford, pp. 231-252.

GOVIER, S. M. (2003) : Principles of treatment for mast cell tumors. Clin. Tech. Small Anim. Pract. 18, 103-106.

GROSS, T. L., PETER J. IHRKE, EMILY J. WALDER, VERENA K. AFFOLTER (2005) : Mast cell tumors. U : Skin Diseases of the dog and cat : Clinical and Histopathologic Diagnosis (second edition), Blackwell Science, Oxford, pp 853-865.

KANDEFER-GOLA M., J. A. MADEJ, S. DZIMIRA, M. NOWAK, I. JANUS, R. CIAPUTA (2015) : Comparative analysis of markers of cell proliferation in canine mast cell tumours according to current classifications. Pol. J. Vet. Sci. 18, 241-247.

KIUEP M., J. D. WEBSTER, R. A. MILLER, J. B. KANEENE (2005) : Impact of tumour depth, tumour location and multiple synchronous masses on the prognosis of canine cutaneous mast cell tumours. J. Vet. A. Physiol. Pathol. Clin. Med. 52, 280-286.

KIUEP, M., J. D. WEBSTER, K. L. BAILEY, S. BEST, J. DELAY, C. J. DETRISAC, S. D. FITZGERALD, D. GAMBLE, P. E. GINN, M. H. GOLDSCHMIDT, M. J. HENDRICK, E. W. HOWERTH, E. B. JANOVITZ, I. LANGOHR, S. D. LENZ, T. P. LIPSCOMB, M. A. MILLER, W. MISDORP, S. MOROFF, T. P. MULLANEY, I. NEYENS, D. O'TOOLE, J. RAMOS-VARA, T. J. SCASE, F. Y. SCHULMAN, D. SLEDGE, R. C. SMEDLEY, K. SMITH, P. W. SNYDER, E. SOUTHORN, N. L. STEDMAN, B. A. STEFICEK, P. C. STROMBERG, V. E. VALLI, S. E. WEISBRODE, J. YAGER, J. HELLER, R. MILLER (2011) : Proposal of a 2-Tier Histologic Grading System for Canine Cutaneous Mast Cell Tumors to More Accurately Predict Biological Behavior. Vet. Pathol. 48, 147-155.

LEIBMAN, N. F., S. E. LANA, R. A. HANSEN, B. E. POWERS, M. J. FETTMAN, S. J. WITHROW, G. K. OGILVIE (2008) : Identification of Matrix Metalloproteinases in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. J. Vet. Intern. Med. 14, 583-586.

LONDON, C. A., B. SEGUIN (2003) : Mast cell tumors in the dog. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 33, 473-489.



MAULDIN, E. A., J. PETERES – KENNEDY (2016) : Integumentary System. U : Pathology of Domestic animals (M. Grant Maxie, Eds.), Elsevier, St. Louis, Missouri, pp. 509-736

MICHELS, G. M., D. W. KNAPP, D. B. DENICOLA, N. GLICKMAN, P. BONNEY (2002) : Prognosis Following Surgical Excision of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors With Histopathologically Tumor-Free Versus Nontumor-Free Margins: A Retrospective Study of 31 Cases. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 38, 458-466.

NEWMAN, S. J., L. MRKONJICH, K. K. WALKER and B. W. ROHRBACH (2007) : Canine Subcutaneous Mast Cell Tumour : Diagnosis and Prognosis. *J. Comp. Path.* 136, 231-239.

NORTHRUP, N. C., B. G. HARMON, T. L. GIEGER, C. A. BROWN, K. P. CARMICHAEL, A. GARCIA, K. S. LATIMER, J. S. MUNDAY, P. M. RAKICH, L. J. RICHEY, N. L. STEDMAN, A. CHENG, E. W. HOWERTH (2005) : Brief Communications : Variation among pathologists in histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors. *J. Vet. Diagn. Invest.* 17, 245-248.

O'KEFFE, D. A. (1990) : Canine mast cell tumors. *Vet. Clin. North Am. Small. Anim. Pract.* 20, 1105-1115.

OZAKI, K., T. YAMAGAMI, K. NOMURA, I. NARAMA (2007) : Prognostic significance of surgical margin, Ki-67 and cyclin D1 protein expression in grade II canine cutaneous mast cell tumor. *J. Vet. Med. Sci.* 69, 1117-1121.

PASSANTINO, L., G. PASSANTINO, A. CIANCIOTTA, M. R. RIBAUD, G. LO PRESTI, G. RANIERI, A. PERILLO (2008) : Expression of proto-oncogene C-kit and correlation with morphological evaluations in canine cutaneous mast cell tumors. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 30, 609-621.

PATNAIK, A. K., W. J. EHLER, E.G. MACEWAN (1984) : Canine Cutaneous Mast Cell Tumor : Morphologic Grading and Survival Time in 83 Dogs. *Vet. Pathol.* 21, 469-474.

PREZIOSI R., G. SARLI, M. PALTRINIERI (2004) : Prognostic value of intratumoral vessel density in cutaneous mast cell tumors of the dog. *J. Comp. Pathol.* 130, 143-151.

PREZIOSI R., M. MORINI, G. SARLI (2004) : Expression of the KIT protein (CD117) in primary cutaneous mast cell tumors of the dog. *J. Vet. Diagn. Invest.* 16, 554-561.

PULZ, L.H., C.N. BARRA, S.R KLEEB, J.G. XAVIER, J.L. CATAO-DIAS, R.A. SOBRAL, H. FUKUMASU, R.F. STREFEZZI (2017) : Increased expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 correlates with improved outcome in canine cutaneous mast cell tumours. *Vet. Comp. Oncol.* 15, , 606-614.

ROMANSIK, E. M., C. M. REILLY, P. H. KASS, P. F. MOORE, C. A. LONDON (2007) : Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. *Vet. Pathol.* 44, 335-341.

RUNGSIPAT, A., W. SRICHAT, N. CHAROENVISAL, N. MANACHAI, W. JEARNANAI, S. WANGNAITHAM, P. TANGKAWATTANA, S. TANGKAWATTANA (2009) : Clinical evaluation of canine mast cell tumor treatment between combined vinblastine and prednisolone and single prednisolone. *Comp. Clin. Pathol.* 18, 77-84.

SABATTINI S., F. SCARPA, D. BERLATO, G. BETTINI (2015) : Histologic Grading of Canine Mast Cell Tumor : Is 2 Better Than 3? *Vet. Pathol.* 52, 70-73.

SCASE, T. J., D. EDWARDS, J. MILLER, W. HENLEY, K. SMITH, A. BLUNDEN, S. MURPHY (2006) : Canine mast cell tumors : correlation of apoptosis and proliferation markers with prognosis. *J. Vet. Intern. Med.* 20, 151-158.

SÉGUIN, B., M. F. BESANCON, J. L. MCCALLAN, L. L. DEWE, M. C. TENWOLDE, E. K. WONG, M. S. KENT (2006) : Recurrence rate, clinical outcome, and cellular proliferation indices as prognostic indicators after incomplete surgical excision of cutaneous grade II mast cell tumors : 28 dogs (1994-2002). *J. Vet. Intern. Med.* 20, 933-940.

SFILIGOI, G., K. M. RASSNICK, J. M. SCARLETT, N. C. NORTHRUP, T. L. GIEGER (2005) : Outcome of dogs with mast cell tumors in the inguinal or perineal region versus other cutaneous locations : 124 cases (1990 – 2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 226, 1368-1374.

SIMOES, J. P. C., P. SCHONING, M. BUTINE (1994) : Prognosis of Canine Mast Cell Tumors : A Comparison of Three Methods. *Vet. Pathol.* 31, 637-647.

STEFANELLO D., P. BURACCO, S. SABATTINI, R. FINOTELLO, C. GIUDICE, V. GRIECO, S. IUSSICH, M. TURSI, T. SCASE, S. DI PALMA, G. BETTINI, R. FERRARI, M. MARTANO, F. GATTINO, M. MARRINGTON, M. MAZZOLA, M. E. VASCONI, M. ANNONI, L. MARCONATO (2015) : Comparison of 2- and 3-category histologic grading systems for predicting the presence of metastasis at the time of initial evaluation in dogs with cutaneous mast cell tumors : 386 cases (2009 – 2014). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 246, 765-769.

STERN, A. W. (2012) : Histologic Grading of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors : Is There a Good System? *J. Vet. Sci. Med. Diagn.* 1, 1.

STREFEZZI, R. F., J. G. XAVIER, J. L. CATÃO-DIAS (2003) : Morphometry of canine cutaneous mast cell tumors. *Vet. Pathol.* 40, 268-275.

STREFEZZI, R. F., J. G. XAVIER, S. R. KLEEB, J. L. CATÃO-DIAS (2009) : Nuclear morphometry in cytopathology : a prognostic indicator for canine cutaneous mast cell tumors. *J. Vet. Diagn. Invest.* 21, 821-825.

THAMM, D. H., M. M. TUREK, D. M. VAIL (2006) : Outcome and Prognostic Factors Following Adjuvant Prednisone/Vinblastine Chemotherapy for High-Risk Canine Mast Cell Tumour : 61 Cases. *J. Vet. Med. Sci.* 68, 581-587.

THOMPSON, J. J., D. L. PEARL, J. A. YAGER, S. J. BEST, B. L. COOMBER, R. A. FOSTER (2011) : Canine Subcutaneous Mast Cell Tumor: Characterization and Prognostic Indices. *Vet. Pathol.* 48, 156-168.

TRERÈ, D. (2000) : AgNOR staining and quantification. *Micron* 31, 127-131.

VAN GELDEREN, A., J. ARCHER, M. E. HERRTAGE (2011) : Pre - and post – operative plasma histamine concentrations in 35 dogs with mast cell tumours. *Comp. Clin. Pathol.* 20, 209-215.

VASCELLARI, M., M. GIANTIN, K. CAPELLO, A. CARMINATO, E. M. MORELLO, A. VERCELLI, A. GRANATO, P. BURACCO, M. DACASTO, F. MUTINELLI (2012) : Expression of Ki67, BCL-2 and COX-2 in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors : Association With Grading and Prognosis. *Vet. Pathol.* 50, 110-121.

VISSE, R., H. NAGASE (2003) : Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases : Structure, Function and Biochemistry. *Circ Res.* 92, 827-839.

WEBSTER, J. D., M. KIUPEL, J. B. KANEENE, R. MILLER, V. YUZBASIYAN-GURKAN (2004) : The use of KIT and tryptase expression patterns as prognostic tools for canine cutaneous mast cell tumors. *Vet. Pathol.* 41, 371-377.

WEBSTER, J. D., V. YUZBASIYAN-GURKAN, R. A. MILLER, J. B. KANEENE, M. KIUPEL (2007) : Cellular proliferation in Canine Cutaneous Mast Cell Tumors : Associations with *c-KIT* and Its Role in Prognostication. *Vet. Pathol.* 44, 298-308.

WEBSTER, J. D., V. YUZBASIYAN-GURKAN, D. H. THAMM, E. HAMILTON, M. KIUPEL (2008) : Evaluation of prognostic markers for canine mast cell tumors treated with vinblastine and prednisone. *BMC Veterinary Research*, 4, 32.

WEISSE C., F. S. SHOFER, K. SORENMO (2002) : Recurrence Rates and Sites for Grade II Canine Cutaneous Mast Cell Tumors Following Complete Surgical Excision. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 38, 71-73.

WELLE, M. M., C. R. BLEY, J. HOWARD, S. RÜFENACHT (2008) : Canine mast cell tumours : a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Vet. Dermatol.* 19, 321-339.

## SAŽETAK

U radu je istraživana pojavnost mastocitoma u pasa ovisno o dobi pasmini, spolu i stupnju malignosti te vrijeme preživljavanja i vrijeme do ponovnog pojavljivanja bolesti (recidiva) u petogodišnjem razdoblju (od 1. siječnja. 2009. do 31. prosinca 2013). Tumori su dostavljeni na histopatološku dijagnostiku na Zavod za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta u Zagrebu. Dijagnosticirani u 123 životinje, ali su bila ukupno 133 tumora. Za praćenje vremena preživljavanja i vremena do pojave recidiva anketirani su vlasnici životinja te su podaci dobiveni za 77 životinja. U skupini od 77 pasa mastocitomi su bili najčešći u zlatnog retrievera, labrador retrievera, boksera i križanaca. Prosječna dob je bila 7, 7 godina i pojavnost je bila nešto češća kod muških životinja (58,44%). Obzirom na stupanj malignosti najzastupljeniji je bio drugi, zatim treći i na kraju prvi stupanj. Podatci koji se odnose na spolnu, pasminsku i dobnu predispoziciju i stupanj tumora su bili slični onima u ukupnom broju životinja. Prosječno vrijeme preživljavanja u anketiranoj skupini od 77 životinja je bilo za prvi stupanj 40,5 mjeseci, za drugi 34,4 mjeseci s velikim varijacijama (raspon 1-84 mjeseca) te za treći 22,2 mjeseca. Od 77 pasa, kod 39 su se pojavile ponovo tumorozne tvorbe od kojih je samo 16 potvrđeno kao recidiv patohistološkom ili citološkom dijagnozom. Životinje s mastocitomom drugog i trećeg stupnja s recidivom su imale kraće prosječno vrijeme preživljavanja nego one bez recidiva. Recidiviranje tumora na isto mjesto značajno je skraćivalo preživljavanje u odnosu na recidiv na drugom mjestu. Rezultati rada ukazuju da samo histopatološki stupnjevi mastocitoma određeni po Patnaiku nisu dostatni za prognozu biološkog ponašanja tumora. Najnepredvidljiviji je drugi stupanj što sugerira potrebu primjene dvostupanjske klasifikacije po Kiupelu za smanjenje varijacije u stupnjevanjima. Uz to su potrebne i druge dijagnostičke pretrage poput određivanja proliferacijskih markera.

Ključne riječi: mastocitom, pas, histopatologija, vrijeme preživljavanja, recidiv

## **SUMMARY**

Survival time and disease free interval in dogs with different grade of mast cell tumor

In this study, incidence of mastocytoma in dogs and its connection with age, breed, sex, malignancy grade, survival time and disease free interval in five year period (1<sup>st</sup> of January 2009 - 31<sup>st</sup> of December 2013.) was investigated. Tumours were analyzed at the Department of veterinary pathology where 133 mastocytoma from 123 dogs were diagnosed. Survival time and disease free interval information was collected for 77 dogs with the help of the owners who participated in a survey. From those 77 dogs, most commonly affected breeds were golden retriever, labrador retriever, german boxer and mongrels. Average age was 7,7 years and male animals were more frequent (58,44%). Regarding the grade of malignancy, most frequent was second grade, then third and in the end first grade. The data for 77 animals that were included in the survey are similar to the data in the entire investigated group (123 dogs). Average survival time for 77 dogs included in the survey was 40,5 months for the dogs with grade I mastocytoma, 34,4 months for grade II (with wide range 1-84 months) and 22,2 months for grade III. Out of 77 dogs, 39 of them had recurrence but only 16 were confirmed as mastocytoma with histopathology or cytology. Animals with grade II and III that developed recurrence had shorter average survival time compared to animals without relapse. Animals with local recurrence had a significantly shorter average survival time compared to animals which had recurrence on different location. Our results show that histopathological grading according to Patnaik system alone is not enough for predicting biological behaviour of mastocytoma. Second grade is most unpredictable which suggests the need of using Kiupel's 2-tier histologic grading system which should result in less grading variations. Also, additional diagnostic procedures such as proliferation markers should be implemented.

Key words : mast cell tumor, dog, histopathology, survival time, recurrence

## **ŽIVOTOPIS**

Rođen sam 1. veljače 1992. godine u Münchenu, Republika Njemačka. Pohađao sam osnovnu školu Ivana Filipovića i Miroslava Krleže. Nakon osnovne škole, upisao sam Klasičnu gimnaziju Zagreb. Srednju školu sam završio 2010. godine i iste godine upisao integrirani preddiplomski i diplomski studij veterinarske medicine na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. U posljednja tri semestra fakultetske nastave odabrao sam usmjerenje za kućne ljubimce. Tijekom studija povremeno sam volontirao na klinici za unutarnje bolesti i išao na dvije Erasmus razmjene. Prva je bila studijska razmjena od 5.2.2016. do 1.7.2016. u Budimpešti, Mađarska na Szent Istvan University i druga je bila Erasmus + stručna praksa od 1.3.2017. do 1.6.2017. u Wrocławu, Poljska na Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu.